UT AUSTIN - GEN LIBS WAREHOUSE
01417131

2016398638
Q 46 P377 V.36 1922 LIFE
SCIENCE

THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF TEXAS
612.11821
In7
v.36
1922

BIOLOGY
LIBRARY

ROOM USE ONLY

ANNALES

DE L'INSTITUT PASTEUR

PARIS. — L. MARETHEUX, IMPRIMEUR, 1, RUE CASSETTE

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

COMITÉ DE RÉDACTION

Dr **CALMETTE**, sous-directeur de l'Institut Pasteur;
Dr **LAVERAN**, membre de l'Institut de France
Dr **L. MARTIN**, sous-directeur de l'Institut Pasteur ;
Dr **ROUX**, directeur de l'Institut Pasteur ;
Dr **VAILLARD**, membre de l'Académie de Médecine.

TOME TRENTE-SIXIÈME

1922

AVEC 1 PORTRAIT, 3 PLANCHES ET 1 CARTE

Printed in France.

PARIS

MASSON ET Cie ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6e).

THE LIBRARY
THE UNIVERSITY
OF TEXAS

36e ANNÉE JANVIER 1922 N° 1

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDE DE L'ACTION THÉRAPEUTIQUE DU BISMUTH SUR LA SYPHILIS

par R. SAZERAC et C. LEVADITI.

Les premières observations concernant l'action du bismuth sur certains micro-organismes pathogènes sont dues à Sauton et Robert (1). Ces auteurs ont montré que la poule résiste à l'infection par le *Spirocheta gallinarum*, lorsqu'elle a reçu, à titre préventif, des injections intramusculaires d'émétique de bismuth. Les tentatives de traitement curatif de la spirillose des poules leur ont donné des résultats encourageants, quoique non décisifs. D'autre part, ils ont annoncé des résultats positifs en ce qui concerne l'essai de différents composés du bismuth dans les trypanosomiases, chez le cobaye, mais sans donner de détails à ce sujet (2).

Nous avons publié précédemment les premières données consécutives à nos propres recherches concernant l'*action du bismuth sur la syphilis et la trypanosomiase du Nagana* (3).

Nous compléterons ici, par de plus amples détails et par

(1) R. Sauton et Robert, Ces *Annales*, **30**, p. 261, 1916. Nous tenons à rendre hommage, ici, à la mémoire de M. R. Sauton, de l'Institut Pasteur, mort au champ d'honneur durant la guerre de 1914-1918.

(2) R. Sauton et Robert disaient dans leur mémoire avoir commencé des expériences concernant l'action du bismuth sur la fièvre récurrente et la syphilis. Malheureusement, leurs résultats sont restés inédits.

(3) R. Sazerac et C. Levaditi. *C. R. Acad. des Sciences*, **172**, p. 1391 et **173**, p. 338; *C. R. de la Soc. de Biol.*, **85**, p. 182.

MAY 2 5 1937

415892

quelques faits nouveaux, l'exposé de nos expériences relatives à la syphilis.

I. — Expériences sur les animaux.

A. *Essais de traitement curatif par la voie sous-cutanée ou intramusculaire.*

Dans nos premières recherches, nous avons employé le tartrobismuthate de potassium et de sodium (1). Nous avons d'abord utilisé ce sel en solution aqueuse alcaline, stérilisable par la chaleur (à 120° durant vingt minutes) sans décomposition.

En injection *sous-cutanée* ou *intramusculaire*, le lapin supporte bien, sans diminuer de poids, 50 à 60 milligrammes de tartrobismuthate par kilogramme. La dose de 100 milligrammes par kilogramme provoque un amaigrissement plus ou moins notable, sans toutefois tuer l'animal. La dose de 200 milligr. par kilogramme tue le lapin en deux ou quatre jours.

Administré dans *la veine*, le même corps est beaucoup plus toxique. Déjà la dose de 5 milligrammes par kilogramme provoque l'amaigrissement progressif chez le lapin et la mort après sept à huit jours. 10 milligrammes ont tué le lapin en trois jours et 20 milligrammes en deux jours.

Nous nous proposons de chercher à déterminer, par la suite, la raison d'être de cette différence considérable entre la toxicité par voie sous-cutanée ou intramusculaire, d'une part, et la toxicité par voie intraveineuse, d'autre part. Il est possible que la plus grande inocuité du tartrobismuthate, dans le premier

(1) La chimie des dérivés bismuthiques de l'acide tartrique (tartrates, tartrabismuthates ou bismuthotartrates, tartrates basiques, etc.), n'étant pas encore bien établie, il est possible qu'il se produise, au début, une certaine confusion dans la dénomination des produits de ce genre, utilisables dans la thérapeutique de la syphilis. On a préparé, en effet, plusieurs tartrates de bismuth et d'alcalis qui pourraient être désignés sous le nom de tartrobismuthate ou bismuthotartrate. En ce qui concerne nos expériences, nous avons employé un produit qui renferme, en chiffres ronds, 50 p. 100 de bismuth. Il a été préparé par la méthode de Cowly (*Chimist and Druggist*, t. LXXXII, p. 212, 1913). D'autre part, si l'on recueille le précipité obtenu au cours de cette préparation, au lieu de le dissoudre dans les alcalis, on obtient, après lavage et dessiccation, un produit qui renferme, en moyenne, 55 p. 100 de bismuth et peut être utilisé en suspension dans l'huile. Nous l'avons employé, par la suite, de préférence, dans nos essais thérapeutiques sur l'homme. L'un de nous (Sazerac) reviendra ultérieurement sur la composition exacte de ce corps.

cas, soit due à la fixation momentanée d'une notable partie du bismuth par les tissus. Lorsqu'on dissèque la région voisine du trajet de l'inoculation, on trouve, en effet, dans le tissu conjonctif ou musculaire, un dépôt blanc abondant, provenant de la dissociation du sel de bismuth.

Chez le lapin, l'injection sous-cutanée de la solution aqueuse de tartrobismuthate à 5 p. 100 ne provoque que rarement une réaction locale, se traduisant par de l'induration. L'injection intramusculaire ne détermine pas de réaction particulière.

Comme races de spirochètes, nous avons utilisé :

a) Un *virus dermotrope*, provenant d'un cas de syphilis primaire humaine, ayant subi de nombreux passages sur le lapin;

b) Un virus de paralytique général, entretenu depuis près de deux ans sur la même espèce animale (*virus neurotrope*).

De plus, nous avons employé le virus de la spirochétose spontanée du lapin (*Spirocheta cuniculi*).

Les animaux ont été traités alors que leurs lésions étaient en pleine évolution et contenaient de très nombreux spirochètes. L'injection a été pratiquée sous la peau et dans les muscles du dos.

Expériences. — A. *Virus dermotrope*. — *Lapin* 98-B, porteur de nodules scrotaux très riches en tréponèmes, reçoit 0 gr. 100 par kilogramme du sel en solution aqueuse, injecté dans le muscle. Disparition des spirochètes dès le lendemain. La lésion s'améliore dès le second jour et guérit le quatrième jour.

Variations de poids : le 24 mai 1921, 2.951 grammes; le 25, 2.830 grammes; le 26, 2.720 grammes; le 27, 2.740 grammes; le 2 juin, 2.845 grammes.

B. *Virus neurotrope*. — *Lapin* 32-M. Lésion préputiale et scrotale très riche en spirochètes. Même dose de médicament injecté sous la peau. Disparition des spirochètes et guérison complète le deuxième jour. Absence de récidive après quatre mois.

Variations de poids : le 29 janvier 1921, 3.000 grammes; le 9 février 2.970 grammes.

Mêmes résultats avec le *lapin* 71-C, ayant reçu 0 gr. 050 par kilogramme sous la peau.

C. *Virus cuniculi*. — *Lapin* 70-0. Lésions préputiales, très riches en spirochètes. Injection intramusculaire de 0 gr. 100 par kilogramme. Disparition des spirochètes le troisième jour. Guérison complète, sans récidive.

Variations de poids : le 10 mai 1921, 3.050 grammes; le 11, 3.000 grammes; le 13, 2.870 grammes; le 21, 3.080 grammes.

Par la suite, nous avons été conduits à penser que le tartrobismuthate pourrait être employé en *suspension huileuse*, et

TxU

nous l'avons injecté, sous cette forme, dans le muscle du dos. La préparation était stérilisée préalablement à 120° durant 20 minutes.

Expériences. — *Lapin* 39-B, P. : 2.970 grammes, porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes (*virus neurotrope*). Le 20 septembre 1921, injection de la suspension huileuse à 10 p. 100, à raison de 0 gr. 100 de tartrobismuthate par kilogramme dans le muscle du râble. Le 21, spirochètes rares. Le 22, les parasites disparaissent complètement et définitivement. Guérison des lésions le troisième jour.

Variations de poids : le 21 septembre 1921, 2.925 grammes; le 22, 2.920 gr.; le 24, 3.010 grammes; le 24 octobre, 3.260 grammes.

Lapin 51-B, P. : 2.700 grammes (*virus neurotrope*). Même injection, même dose. Disparition complète des tréponèmes, le troisième jour. Guérison complète et définitive, le quatrième jour.

Variations de poids : le 20 septembre 1921, 2.700 grammes; le 24, 2.600 gr.; le 28, 2.650 grammes.

En ce qui concerne la *toxicité* du tartrobismuthate en *suspension huileuse, nous avons observé qu'elle est plus faible, chez le lapin, que la toxicité de la solution aqueuse*, ainsi que le montrent les résultats suivants :

Lapin 30-B, P. : 2.375 grammes, reçoit le 8 octobre 1921, sous forme de suspension huileuse, en injection intramusculaire, 0 gr. 400 de tartrobismuthate par kilogramme.

Variations de poids : le 9 octobre 1921, 2.320 grammes; le 10, 2.325 grammes; le 12, 2.280 grammes; le 22, 2.300 grammes; le 26, 2.400 grammes.

Or, nous avons vu que, sous forme de solution aqueuse, la dose de 0 gr. 200 par kilogramme tue le lapin en deux à quatre jours.

*
* *

Au point de vue de l'action curative, nous avons encore essayé le tartrobismuthate de potassium et de sodium en mixture aqueuse ou en solution, administrée par la *voie buccale* ou par la *voie anale*. En outre, nous avons effectué des essais de traitement des lésions par une application locale de pommade à base de tartrobismuthate. Ces recherches ont été effectuées en collaboration avec M. Isaïcu.

B. *Essais de traitement par la voie buccale.*

Expérience. — *Lapin* 80-03, P. : 2.030 grammes, porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes (virus neurotrope). — Le 20 juillet 1921, on lui

administre, par la *voie buccale,* 20 cent. cubes de la mixture contenant 20 p. 100 de tartrobismuthate.

Le 21 juillet 1921, tréponèmes nombreux. Nouvelle dose de 20 cent. cubes de mixture. Le 22, trépomènes nombreux. Le 23 et le 26, même état.

Nous avons obtenu un résultat analogue avec le tartrobismuthate en solution aqueuse, administré par la voie buccale.

Quoique encore incomplètes, ces expériences semblent montrer que le sel bismuthique, donné par la voie buccale, n'exerce pas d'action notable sur l'évolution de la syphilis chez le lapin.

C. *Essai de traitement par la voie anale.*

Nous avons essayé le tartrobismuthate en mixture aqueuse, à 20 p. 100.

Expérience. — Le *lapin* 71-E, porteur de lésions préputiales et anales riches en tréponèmes (virus neurotrope), reçoit, dans le rectum, 10 cent. cubes de la mixture aqueuse. Les tréponèmes disparaissent après deux jours et la lésion semble guérie. Néanmoins, le douzième jour, les lésions préputiales réapparaissent. Celles-ci contiennent de nombreux tréponèmes, le dix-septième jour.

Administré *par la voie anale*, le tartrobismuthate en mixture aqueuse semble donc déterminer la disparition passagère des spirochètes et la guérison momentanée des lésions. Nous poursuivons nos expériences en vue de savoir s'il est possible d'obtenir de meilleurs résultats par la voie anale.

D. *Essai de traitement par application locale.*

Ces essais ont été faits en dehors de tout autre mode d'administration du sel bismusthique. En applications locales, nous avons employé une *pommade* ayant la composition suivante : tartrobismuthate de potassium et de sodium : 30 grammes, vaseline : 30 grammes, lanoline : 30 grammes.

Nous avons également employé *la poudre* de tartrobismuthate.

Expériences. — Le *lapin* 80-S, porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes (virus neurotrope), reçoit une application locale de *pommade,* renouvelée le lendemain. Tréponèmes rares le deuxième jour et absence de

tréponèmes le troisième jour. La lésion semble guérie et, *pendant un intervalle de 42 jours*, les parasites ne peuvent être décelés. A ce moment, *récidive* avec apparition de nombreux tréponèmes. Une nouvelle application de pommade produit le même effet temporaire.

Cette expérience, répétée à plusieurs reprises, a donné constamment des résultats analogues. On peut en conclure que l'application locale de pommade à base de tartrobismuthate provoque la disparition des spirochètes pendant un temps assez long (de douze à quarante-deux jours) et la guérison apparente des lésions, suivie de récidive. Il s'agit d'une action thérapeutique superficielle, dont l'application à l'homme, concurremment avec le traitement par injections intramusculaires, pourrait être fort utile. En particulier, les avantages de ce traitement combiné doivent être envisagés *au point de vue de la prophylaxie*.

Nous nous sommes demandé si, à la suite des applications locales de pommade, la race de spirochètes qui provoque la récidive n'est pas devenue résistante à l'action du bismuth (en admettant que le corps actif ait pénétré assez profondément dans les tissus). Mais nous avons déjà vu qu'une nouvelle application de pommade provoque encore chez les animaux ainsi traités la disparition temporaire des tréponèmes. D'autre part, si l'on traite, par la voie intramusculaire, un animal à récidive locale, on constate la même action thérapeutique que chez un animal témoin, porteur de lésions, mais n'ayant pas reçu de pommade. Voici le détail d'une telle expérience.

Lapin 80-S, porteur de lésions récidivantes contenant de nombreux tréponèmes, reçoit 0 gr. 100 par kilogramme de tartrobismuthate en suspension huileuse. Disparition totale des parasites, le second jour. Guérison sans récidive.

Avec la *poudre* de tartrobismuthate en applications locales, nous avons fait plusieurs essais, dont le suivant :

Lapin 1-B, porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes, reçoit une application locale de poudre bismuthique, deux jours de suite. Disparition des parasites le second jour, mais récidive le septième jour.

La poudre de tartrobismuthate agit donc de la même façon que la pommade, mais moins énergiquement.

Des expériences actuellement en cours montreront à quel

point cette application locale de pommade ou de poudre peut exercer une *action préventive*.

*
* *

Le tratrobismuthate n'est pas le seul dérivé du bismuth qui se montre actif contre la syphilis, chez le lapin. Nous avons encore essayé, à ce point de vue, un certain nombre de composés bismuthiques, et voici les résultats obtenus pour chacun d'eux.

Citrate de bismuth ammoniacal. — En solution dans l'eau, ce sel, administré par voie sous-cutanée, est notablement plus toxique pour le lapin que le tartrobismuthate. La dose de 50 milligrammes par kilogramme tue le lapin en trois à quatre jours, alors que la même dose de tratrobismuthate est tout à fait inoffensive.

Administré au lapin par voie sous-cutanée, ce sel se montre assez actif, comme en témoigne l'essai suivant :

Lapin 94-B, porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes (virus neurotrope), reçoit 0 gr. 015 de citrate de bismuth ammoniacal par kilogramme, en injection sous-cutanée. Deux jours après, on ne trouve plus de tréponèmes. Le troisième jour, on décèle un seul spirochète. Nouvelle injection, ce jour-là, de 0 gr. 20 par kilogramme de sel bismuthique. Disparition totale des parasites, le quatrième jour, sans récidive.

Lactacte de bismuth soluble. — Nous avons employé ce corps d'abord en injection sous-cutanée et ensuite par la voie buccale.

En *injection sous-cutanée*, chez le lapin, il semble assez actif, mais, dans certains cas, il peut provoquer une escarre dans le voisinage du point d'inoculation. Voici le détail d'une observation.

Lapin 7-E, porteur de lésions préputiales riches en spirochètes, reçoit 50 milligrammes de lactate par kilogramme. Quatre jours après l'injection, les spirochètes ont disparu, et les lésions guérissent le cinquième jour. Mais, dès le troisième jour, apparaît une eschare qui n'est pas encore guérie huit jours après.

Variations de poids : le 29 septembre 1924, 2.370 grammes; le 2 octobre, 2.337 grammes; le 6, 2.325 grammes; le 8, 2.225 grammes; le 10, 2.300 grammes.

Administré *par la bouche*, ce même corps semble également actif. Nous avons observé un cas de guérison assez rapide, par ce mode de traitement, chez un lapin inoculé avec le *virus cuniculi*, porteur de lésions préputiales et scrotales.

Le *lapin* 61 Mc reçoit par la bouche 20 cent. cubes d'une solution de lactate à 5 p. 100, soit 1 gramme de sel. Même traitement les deux jours suivants. Après cinq jours, les tréponèmes avaient disparu et les lésions étaient guéries le septième jour.

Variations de poids : le 28 septembre 1921, 3.235 grammes; le 30, 2 910 gr.; le 3 octobre, 2.995 grammes; le 8, 2.810 grammes; le 13, 2.920 grammes; le 18, 2.950 grammes; le 26, 3.100 grammes.

Nous poursuivons ces dernières expériences.

*
* *

Sous-gallate de bismuth. — Ce sel a été dissous dans la soude normale, de façon à donner une solution voisine de la neutralité. On obtient ainsi, d'après certains auteurs, un véritable bismuthogallate de sodium. Cette préparation s'est montrée assez active contre la syphilis, mais elle semble assez *toxique*, comme en témoignent les expériences suivantes :

Lapin G-9, normal, reçoit 50 milligrammes par kilogramme du sel bismuthique en solution aqueuse, par voie sous-cutanée. Deux jours après, il meurt.

Lapin G-14, normal, reçoit 25 milligrammes par kilogramme du même produit, par voie sous-cutanée. Il maigrit progressivement, est pris de tremblements convulsifs de tout le corps au bout de six jours, et meurt huit jours après l'injection, ayant perdu 900 grammes sur 2.400.

Lapin 54-B, P. : 2.225 grammes, porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes (virus neurotrope), reçoit 50 milligrammes de produit en injection sous-cutanée. Les tréponèmes disparaissent le lendemain et les lésions guérissent deux jours plus tard, mais l'animal meurt cinq jours après l'injection (P. : 2.090 grammes).

En *suspension huileuse*, le sous-gallate de bismuth paraît moins toxique, tout en étant assez actif contre la syphilis, ainsi que le montre l'essai suivant :

Lapin 40-B, porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes (virus neurotrope), reçoit 50 milligrammes par kilogramme du produit en suspension huileuse. Deux jours après, les tréponèmes disparaissent et les lésions s'améliorent. Guérison, le quatrième jour. Absence de récidive.

Oxyiodogallate de bismuth. — Nous avons essayé ce corps sous forme de suspension huileuse, à la concentration de 10 p. 100, sur le *virus dermotrope*.

Lapin 20-O, porteur d'un nodule scrotal contenant de nombreux tréponèmes, a reçu 0 gr. 100 par kilogramme du produit en suspension huileuse, dans le muscle du râble. Deux jours après, les parasites ont disparu et les lésions sont guéries le quatrième jour. L'animal a maigri de 300 grammes. Absence de récidive.

L'oxyiodogallate semble donc assez actif, mais peut être plus toxique que le tratrobismuthate.

*
* *

En comparant les résultats obtenus avec des composés bismuthiques à structure linéaire, tels que le tartrobismuthate et le citrate, et, d'autre part, avec le sous-gallate ou l'oxyiodogallate, qui renferment un groupement cyclique, on est porté à penser que la présence de ce dernier groupement n'est pas de nature à augmenter notablement le pouvoir spirillicide de la molécule dont il fait partie. Nous verrons, par la suite, si le résultat de cette comparaison demeure constant au cours de l'essai des différents dérivés du bismuth, en tant qu'agents antisyphilitiques. Notons également que le sous-gallate dissous dans la soude normale (ou bismuthogallate de sodium) paraît être le plus toxique parmi les produits que nous avons essayés. Il est possible que ce fait soit dû à la présence de la fonction phénol.

L'examen des données précédentes et des résultats, déjà acquis, de nos expériences en cours nous donne l'impression qu'un grand nombre de dérivés du bismuth, appartenant aux différentes séries de la classification chimique, doivent être doués d'un pouvoir antisyphilitique plus ou moins énergique.

II. — Essais thérapeutiques sur l'homme.

Parmi les composés du bismuth dont nous avons étudié l'action, le tartrobismuthate nous a paru le mieux indiqué au point de vue de la thérapeutique humaine. Il se montre, en effet, particulièrement stable et relativement peu toxique

en injection sous-cutanée ou intramusculaire, l'injection par voie intraveineuse étant *absolument contre-indiquée*. En outre, son pouvoir antisyphilitique semble au moins égal à celui des autres préparations.

Nous avons d'abord pensé que ce corps pourrait être employé en solution aqueuse dans le traitement, par injections, de la syphilis humaine. Mais nous avons reconnu que de telles injections, quoique sans danger, peuvent provoquer de la douleur et une réaction locale, au bout d'un certain temps. Par contre, le même sel, administré en suspension huileuse, par la *voie intramusculaire*, est beaucoup mieux toléré chez l'homme. Il se peut que, sous cette forme, son action soit plus lente, mais nous avons des raisons de croire qu'elle est aussi plus constante, plus profonde et plus durable. Nous avons donc employé *la suspension huileuse* dans nos essais.

Nos observations sont au nombre de cinq (1) : un cas de syphilis à la période primaire, deux cas de syphilis présentant des manifestations primaires et secondaires et deux cas de syphilis tertiaire (2).

Observation I. — L..., *Syphilis primaire.* — Chancre du sillon balanopréputial contenant de nombreux tréponèmes, adénopathie inguinale, absence de manifestations secondaires. *Le chancre date de 12 jours.* Début du traitement le 20 mai 1921. Neuf injections *intramusculaires* de sel bismuthique (suspension huileuse) à des intervalles variant de trois à six jours. Dose totale, le 15 juillet : 1 gr. 11.

Résultat. — Disparition des tréponèmes le troisième jour après le début du traitement. Cicatrisation du chancre le cinquième jour; la lésion diminue rapidement de volume, ainsi que les ganglions inguinaux. Absence totale de manifestations secondaires. La réaction de Bordet-Wassermann, *positive* le 1er juin, devient *négative* le 18 du même mois et se maintient telle jusqu'à présent, 14 novembre. Le 15 juillet, soit environ deux mois après le début du traitement, on observe encore une légère induration au niveau de l'ancien chancre. *Absence de récidive pendant les 7 mois d'observation.*

Observation II. — St..., *Syphilis secondaire.* — Chancre du prépuce, adénopathie inguinale, plaques muqueuses amygdaliennes. Les tréponèmes sont nombreux dans l'accident primitif. Début du traitement le 20 mai. Dix injections intra-musculaires; dose totale : 1 gr. 4 produit actif.

Résultat. — Disparition des tréponèmes le cinquième jour (après la deuxième

(1) R. Sazerac et C. Levaditi. *C. R. Acad. des Sciences*, 1921, **172**, p. 338.

(2) Les malades que nous avons traités nous ont été envoyés par le Dr Louis Fournier, médecin à l'hôpital Cochin, auquel nous adressons l'expression de notre sincère reconnaissance.

TxU

injection). Cicatrisation du chancre et des plaques muqueuses le 27 mai (7 jours après le début du traitement). L'adénopathie s'atténue sensiblement et finit par disparaître presque complètement. La réaction de Bordet Wassermann est encore positive le 28 juin. Elle est négative, en dehors de tout nouveau traitement le 27 décembre. *Absence de récidive pendant les 7 mois d'observation.*

Observation III. — Ich..., *Syphilis secondaire.* — Chancre sous-préputial avec balano-posthite et phimosis. Syphilides papuleuses du front. Spirochètes assez nombreux au niveau des lésions secondaires. Adénopathie. Début du traitement le 20 mai. Huit injections intramusculaires; dose totale : 1 gramme.

Résultat. — Disparition des tréponèmes au niveau des papules du front (3 jours après la première injection). Guérison des manifestations secondaires le septième jour. Le phimosis est réductible le troisième jour; le septième jour, cicatrisation complète du chancre. La réaction de Bordet-Wassermann est devenue *négative* au début d'octobre.

Observation IV. — N..., *Syphilis tertiaire.* — Accident primitif il y a deux ans. Actuellement, *gomme ulcérée du genou* et *gommes multiptes non ulcérées de la jambe droite*, datant d'environ trois mois. Début du traitement le 11 juin. Six injections intramusculaires; dose totale : 1 gr. 5.

Résultat. — Diminution progressive de la gomme ulcérée qui, actuellement, est cicatrisée. Guérison complète des gommes non ulcérées dès le dixième jour. La réaction de Bordet-Wassermann est positive le 5 juillet.

Observation V. — Vi..., *Syphilis tertiaire.* — Accident primitif il y a douze ans. *Syphilides tertiaires serpigineuses et croûteuses* des lombes et des fesses, occupant une très large surface, datant de trois ans. Début du traitement le 11 juin. Six injections intramusculaires; dose totale : 1 gr. 3.

Résultat. — Dès le troisième jour, les lésions se dessèchent. Elles sont presque guéries le treizième jour. Cicatrisation complète le 30 juin (en dix-neuf jours).

Complications. — Chez le premier de nos malades, nous avons constaté une stomatite fuso-spirillaire, localisée au niveau de la dent de sagesse, sans salivation, ni mauvaise haleine. Cette stomatite a guéri à la suite du traitement local au bleu de méthylène. Chez un autre malade (Obs. II), nous avons constaté un liseré gingival, ressemblant au liseré saturnin. Aucune autre complication. Absence d'albuminurie.

A en juger par les observations qui précèdent, le traitement au tratrobismuthate de sodium et de potassium détermine la disparition rapide des tréponèmes des lésions ouvertes et la cicatrisation de ces lésions en quelques jours. Il agit sur l'adénopathie syphilitique primaire et secondaire, et influence favorablement les accidents tertiaires. Dans trois cas (syphilis traitée dès le début) la réaction Bordet-Wassermann, qui était

positive, est devenue négative et s'est maintenue telle pendant sept mois, en dehors de tout autre traitement. Chez aucun de nos malades suivis, nous n'avons constaté de récidive. Les seuls accidents observés ont été le liseré gingival, qui traduit l'imprégnation de l'organisme par le bismuth, et la stomatite.

Le temps écoulé depuis l'application du nouveau traitement est trop court pour que l'on puisse affirmer quoi que ce soit de précis au sujet de la guérison *radicale* de la syphilis par les sels bismuthiques (stérilisation). De longs mois d'observation sont nécessaires pour formuler une opinion définitive à ce sujet. Quoi qu'il en soit, les résultats obtenus autorisent d'ores et déjà l'application de ce mode de traitement.

Les cliniciens suivants ont entrepris de nombreux essais dans toutes les formes de la syphilis : Drs L. Fournier et Guénot, Jacquet, A. Marie, Ravaut, Emmery, Thibierge, Hudelo, Milian, Charmeille, Nicolle, de Tunis, etc.

Les docteurs L. Fournier et Guénot viennent de publier les premiers résultats cliniques obtenus dans le traitement de la syphilis par le bismuth (1). Leurs observations sont au nombre de 110. Elles complètent les nôtres, tout en les confirmant.

*
* *

De l'ensemble de ces recherches, il résulte que le bismuth est un spirillicide d'une activité remarquable, et dont l'action, tant chez l'homme que chez l'animal, est comparable à celle des meilleurs médicaments antisyphilitiques connus. Il semble agir mieux que le mercure et plus profondément, quoique, dans certains cas, moins rapidement que les dérivés arsenicaux les plus actifs. La stabilité *in vitro* des dérivés bismuthiques que nous avons expérimentés est un avantage notable au point de vue de la pratique thérapeutique.

Nous poursuivons l'étude expérimentale du pouvoir antisyphilitique d'un certain nombre d'autres dérivés du bismuth, dans le but de déterminer les relations possibles entre le degré d'activité de ces dérivés et leur constitution chimique.

Dès à présent, il nous est permis de noter que le tartrobis-

(1) L. Fournier et Guénot. *C. R. Acad. des Sciences*, 1921, **173**, p. 674.

OF TEXAS

muthate, dont nous avons plus particulièrement démontré l'efficacité, appartient à un groupe de composés dont la structure moléculaire est relativement simple par rapport à celle de certains dérivés arsenicaux, tels que le dioxydiaminoarsénobenzène, qui peuvent lui être comparés au point de vue de l'activité et du degré de toxicité (par voie intramusculaire). La participation d'un groupement cyclique à fonctions plus ou moins complexes, en vue de constituer une molécule active et relativement peu toxique, dans des conditions déterminées, est assurément superflue dans le cas du bismuth.

Nous espérons pouvoir montrer, par la suite, dans quel sens peut influer, au point de vue de l'activité et de la toxicité, la constitution d'une molécule dont la structure serait analogue à celle de certains dérivés de l'arsénobenzène, mais où l'arsenic serait remplacé par le bismuth. On sait que, grâce à certaines affinités chimiques communes, le bismuth peut être rapproché de l'arsenic et de l'antimoine, au point de vue de la classification et des capacités réactionnelles.

415892

TRAITEMENT DE LA SYPHILIS PAR LE BISMUTH

par L. FOURNIER et L. GUÉNOT.

Grâce aux belles expériences de MM. Sazerac et Levaditi, la thérapeutique antisyphilitique vient de s'enrichir d'un nouveau « spécifique » : le bismuth. Ces auteurs, en effet, ont mis hors de doute la puissante action curative de ce métal et dans la syphilis expérimentale du lapin et dans la syphilis humaine.

Mais un petit nombre d'essais sur l'animal et sur l'homme, quelque satisfaisants qu'aient été les résultats, ne suffit pas à établir définitivement la valeur thérapeutique réelle d'un procédé ou d'une substance. Aussi MM. Sazerac et Levaditi nous ont-ils confié le soin d'étudier sur un grand nombre de cas l'application du traitement bismuthé à la syphilis humaine, d'en observer les effets cliniques et sérologiques, de formuler la posologie du médicament et enfin de dénoncer les inconvénients ou les accidents qui pouvaient lui être attribués.

A l'heure actuelle, nous avons traité par différents sels de bismuth, principalement par le tartrobismuthate de potassium et de sodium et par des produits voisins en suspension huileuse (1), environ 200 syphilitiques. Les résultats que nous a donnés ce traitement confirment d'une façon absolue ceux qu'avaient obtenus MM. Sazerac et Levaditi et montrent que désormais le bismuth mérite d'être considéré comme un des agents antisyphilitiques les plus puissants.

I. — Action sur le chancre.

Le tréponème disparaît de la surface du chancre parfois dès le lendemain de la première injection, le plus ordinairement après la deuxième; il est rare qu'il persiste après la troisième.

Les petits chancres érosifs se cicatrisent complètement en quelques jours; il faut une à deux semaines pour les chancres

(1) Pour la composition des dérivés bismuthiques employés, voir le mémoire Sazerac et Levaditi, p. 2 de ce numéro des *Annales*.

41789

moyens. Les chancres géants ou ulcéreux persistent vingt et vingt-cinq jours, mais ils perdent rapidement leurs caractères de spécificité pour prendre l'aspect d'une lésion banale, dont la réparation exige évidemment un temps en rapport avec ses dimensions.

L'induration chancreuse et l'adénopathie satellite sont plus rapidement influencées par le bismuth que par n'importe quel autre traitement et disparaissent parfois complètement en quelques semaines. Dans 3 cas nous avons vainement cherché le tréponème dans les ganglions après la troisième injection, c'est-à-dire sept à huit jours après le début du traitement.

Observation II. — *Rich...*, 6 juin. Grand chancre ulcéreux, très profond, de la face dorsale de la langue; chancre plus petit de la gencive; grosse adénopathie maxillaire bilatérale. Début il y a trois semaines. Tréponèmes constatés. Wassermann *positif* : + + +.

Traitement. — Du 6 au 19 juin, 1 gr. 50 de tartrobismuthate en 8 injections. Liseré gingival; pas de stomatite.

Résultats. — Chancre gingival cicatrisé en dix jours, chancre lingual en vingt jours (très remarquable résultat, vu l'étendue en surface et en profondeur de ce dernier chancre).

2 octobre. Aucun accident secondaire. Wassermann *presque négatif.*

Observation III. — *Salv...*, cinquante-six ans. 9 juin. Petit chancre du gland, de dix jours environ. Tréponèmes. Wassermann faiblement positif : +.

Traitement. — 3 injections de bismuth, à deux jours d'intervalle : 0 gr. 20, 0 gr. 40, 0 gr. 20. Stomatite ulcéro-membraneuse, œdème, adénopathie volumineuse, albuminurie légère; guérison de tous ces accidents en cinq ou six jours.

Résultats. — Disparition du tréponème après la première injection. Chancre complètement cicatrisé en cinq jours.

2 juin : Wassermann *négatif.*

Observation VI. — *Luc...*, dix-neuf ans. 13 juin. Trois chancres balano-préputiaux, adénopathie bi-inguinale. Début : un mois. Tréponèmes. Wassermann : + + + +.

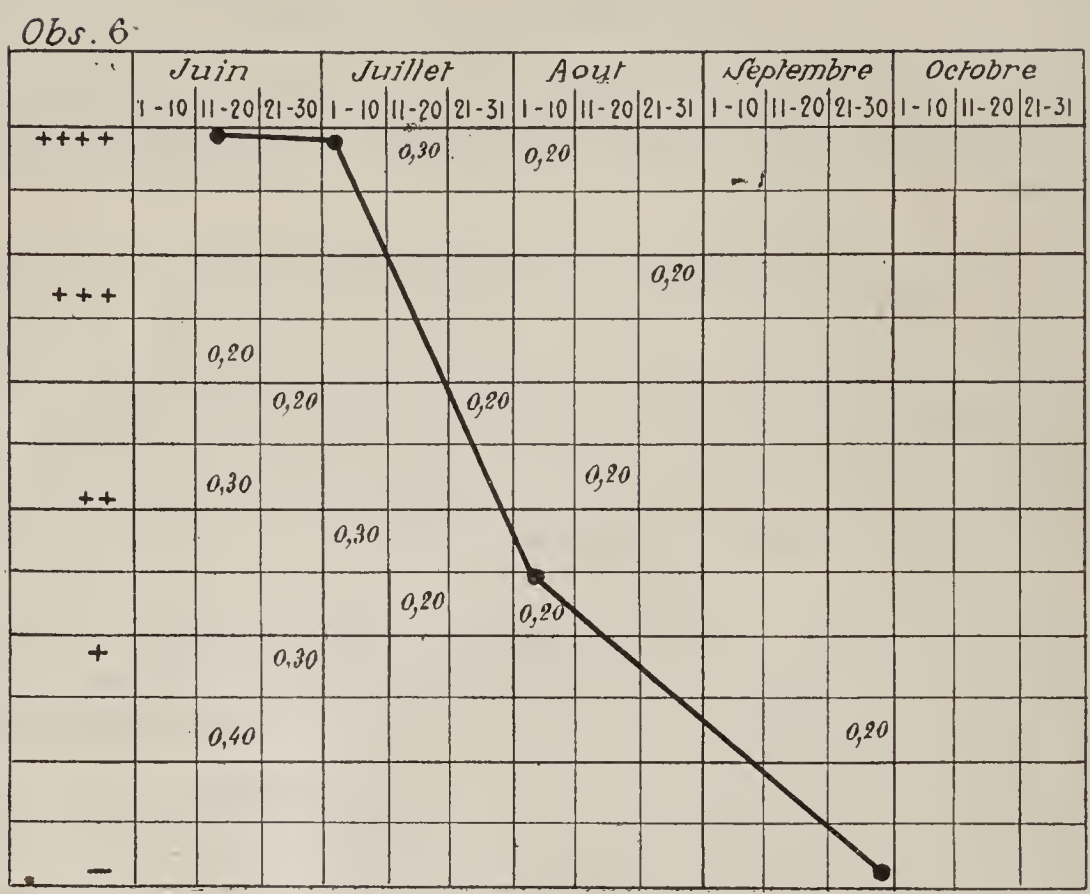
Traitement. — Du 14 juin au 23 août, 3 gr. 50 de bismuth en 14 injections. Liseré gingival, pas de stomatite.

Résultats. — Les tréponèmes disparaissent seulement après la troisième injection; on n'en trouve pas non plus à ce moment dans les ganglions. Chancres complètement cicatrisés le onzième jour. Dans la suite, pas d'accidents secondaires.

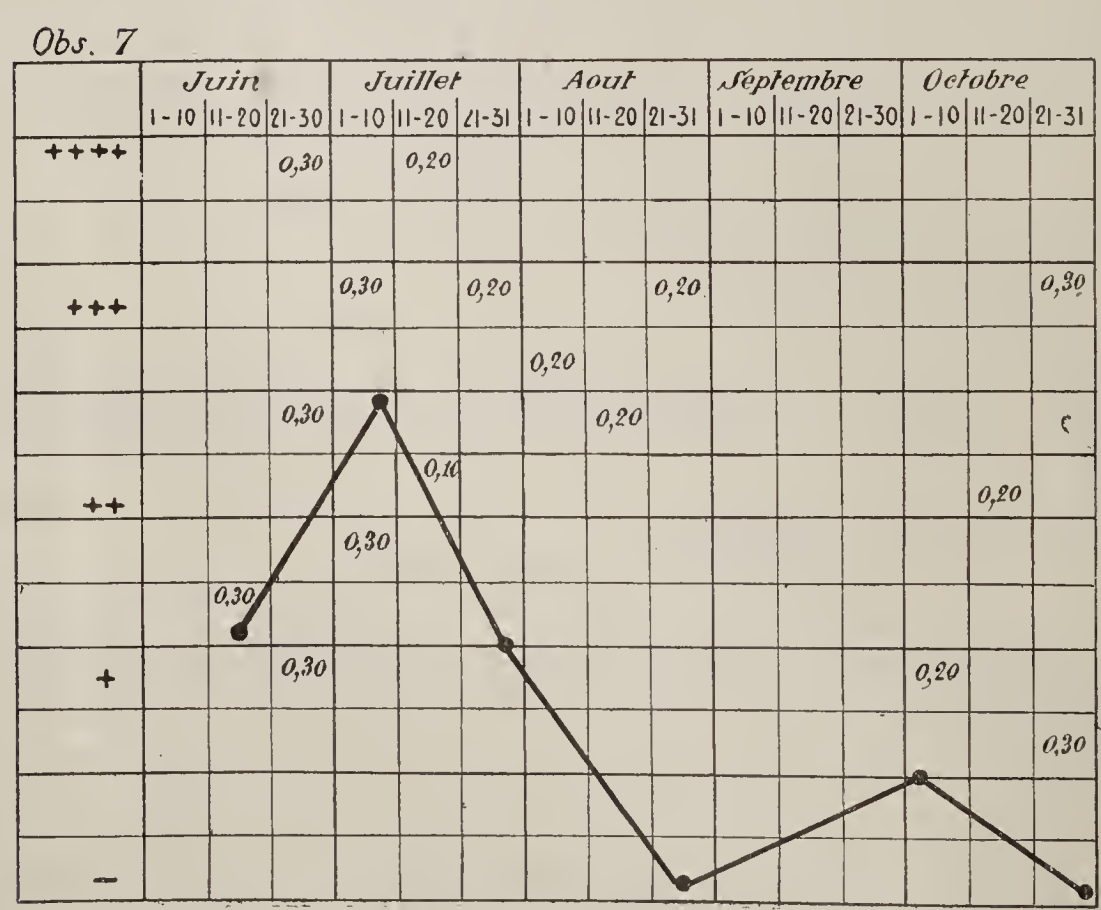
Wassermann : + + + + le 3 juillet; + + le 1er août, — le 30 septembre (courbe 1).

Observation VII. — *Dub...*, vingt-cinq ans. Chancre de l'anus. Adénopathie bi-inguinale. Début apparent : dix jours. Tréponèmes. Wassermann : + +.

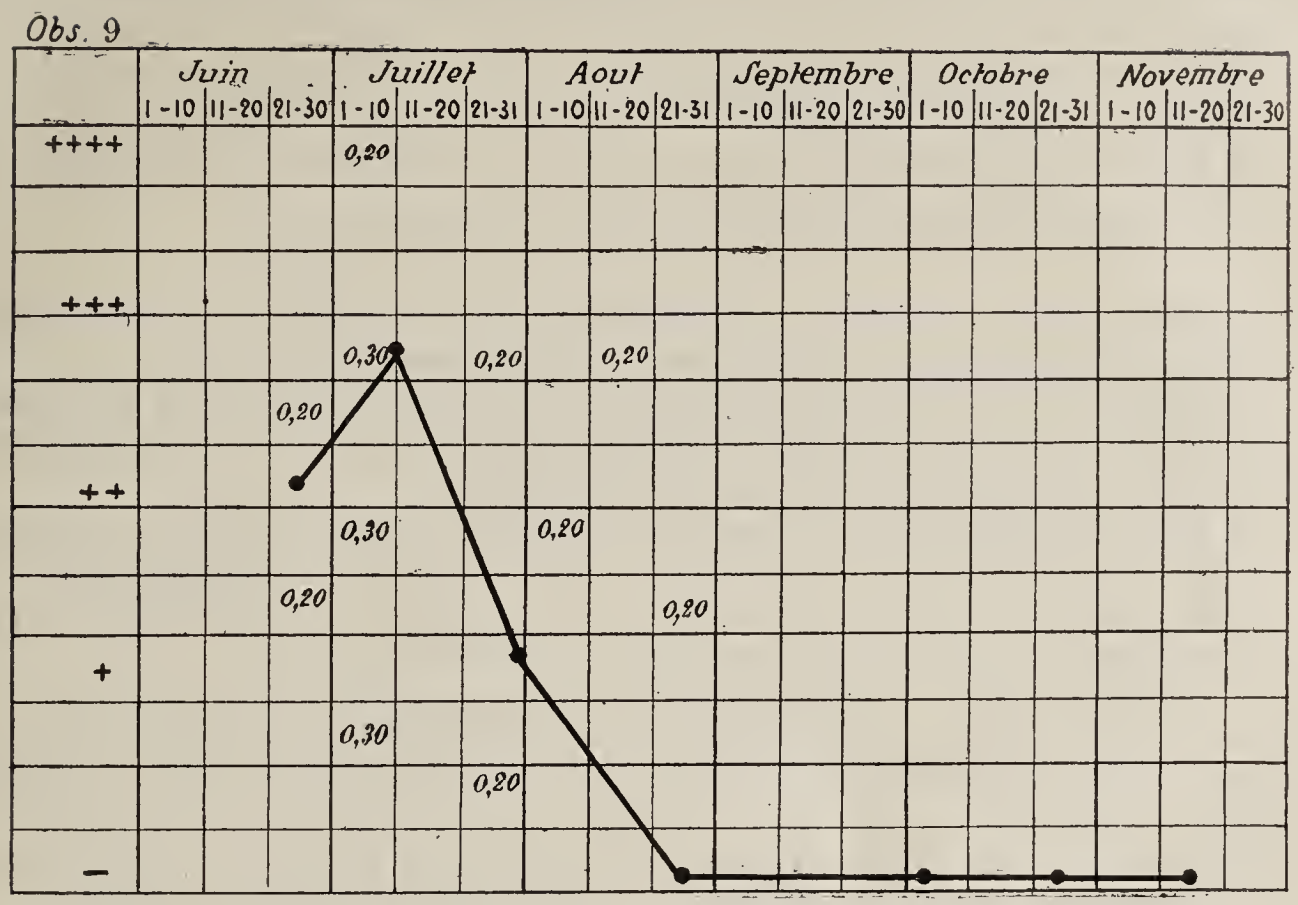
Traitement. — Du 18 juin au 23 août, 2 gr. 90 de bismuth en 12 injections. Liseré gingival précoce. Stomatite d'alarme vers la fin du traitement.



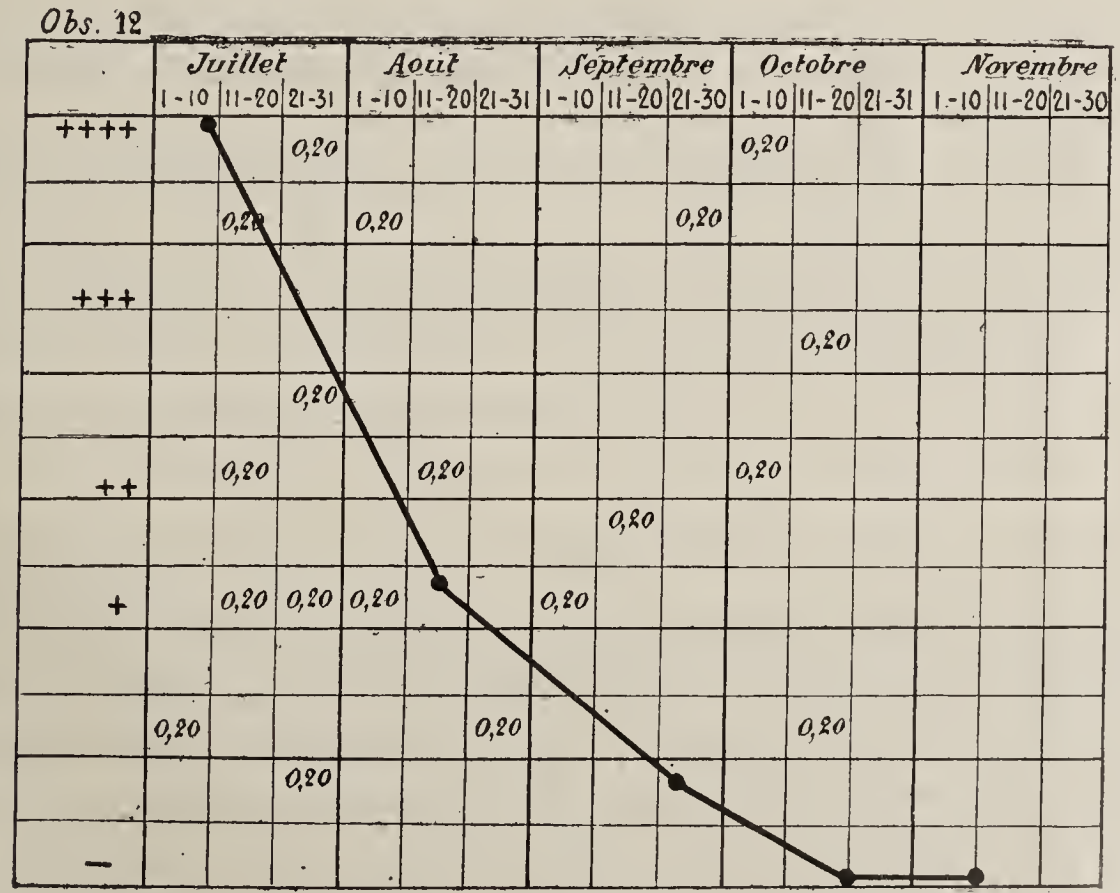
Courbe 1.



Courbe 2.



Courbe 3.



Courbe 4.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la première injection. Chancre cicatrisé en dix-huit jours. Dans la suite, pas d'accidents secondaires.

Wassermann d'abord augmenté (+ + + le 7 juillet), puis atténué (+ le 29 juillet) et *négatif le* 28 *août.*

2 octobre : Wassermann suspect. On fait 4 nouvelles injections (1 gr. de bismuth).

30 octobre : Wassermann *complètement négatif* (courbe 2).

Observation IX. — *Proven...*, vingt ans. 24 juin. Chancre de la rainure, adénopathie bi-inguinale. Tréponèmes. Wassermann + + +.

Traitement. — Du 25 juin au 10 juillet, 1 gr. 50 de bismuth en 6 injections. Interruption au traitement pour stomatite, d'ailleurs légère. Du 24 juillet au 28 août : 1 gramme de bismuth en 5 injections.

Résultats. — Disparition du tréponème après la première injection. Chancre complètement cicatrisé en quinze jours. Pas d'accidents secondaires.

Wassermann : + + + le 10 juillet ; + le 31 juillet ; *complètement négatif* les 28 août, 2 octobre, 23 octobre, 16 novembre (courbe 3).

Observation XII. — *Le...*, vingt-deux ans. Chancre herpétiforme du fourreau ; adénite inguinale droite. Début : vingt jours. Tréponèmes. Wassermann : + + + +.

Traitement. — Du 10 juillet au 15 août : 2 gr. 20 de bismuth en 11 injections. En septembre, 0 gr. 80 de bismuth en 4 injections ; en octobre, 0 gr. 80.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la deuxième injection. Chancre complètement cicatrisé le cinquième jour. Pas d'accidents secondaires.

Wassermann : + + le 16 août, presque négatif le 22 septembre ; *complètement négatif* le 15 octobre et le 10 novembre (courbe 4).

Observation XIII. — *Robl....* trente-quatre ans. Grand chancre croûteux du fourreau (1 cent. × 3 cent.). Adénite inguinale droite. Tréponèmes. Wassermann + + + +.

Traitement. — Du 13 juillet au 20 août : 2 gr. 75 de bismuth en 10 injections. Liseré précoce, stomatite légère. Du 23 septembre au 23 octobre : 1 gr. 30 de bismuth en 5 injections.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la deuxième injection. Chancre rapidement modifié d'aspect ; cicatrisation complète en vingt-cinq jours. Pas d'accidents secondaires.

Wassermann : + + + le 29 juillet ; + le 21 août ; suspect le 23 septembre ; *négatif* le 24 octobre.

Dans tous les cas de chancre syphilitique que nous avons pu soigner régulièrement, les résultats du traitement ont été analogues à ceux des observations ci-dessus, tant au point de vue clinique qu'au point de vue sérologique. Dans quelques autres cas où la négligence des malades n'a pas permis un traitement régulier, nous avons observé une réapparition plus ou moins accentuée de la réaction de fixation. Mais jamais les accidents secondaires n'ont apparu.

Chez deux malades présentant des chancres de moins de huit jours, la guérison a été rapide et le Wassermann, négatif avant le traitement, est resté négatif par la suite.

II. — Action sur les accidents secondaires.

Les tréponèmes disparaissent des plaques muqueuses après la première ou la seconde injection. Ce sont, comme avec l'arsenic, les plaques buccales qui guérissent le plus rapidement. Nous avons vu se cicatriser complètement en quatre ou cinq jours des plaques en nappe des lèvres, du voile, des piliers, des amygdales.

Les plaques génitales érosives guérissent presque aussi rapidement. Les plaques hypertrophiques s'assèchent en quelques jours, puis se flétrissent et se résorbent en dix à vingt-cinq jours, selon l'importance des tissus de néoformation. Quand le traitement est commencé dès l'apparition de la roséole, celle-ci est arrêtée dans son développement, parfois après une exacerbation de vingt-quatre heures. Cette réaction de Herxheimer peut se manifester aussi au niveau des syphilides papuleuses. La simple roséole s'efface généralement en cinq à dix jours; les papules sont un peu plus longues à se résorber. Nous avons pourtant vu disparaître en quinze jours une éruption miliaire généralisée et des syphilides palmaires, manifestations, on le sait, assez rebelles au traitement spécifique. Par contre, dans un seul cas il est vrai, le relief des papules ne s'est affaissé complètement qu'au trente-cinquième jour, mais depuis quelque temps déjà celles-ci avaient perdu leur coloration spéciale.

Les phénomènes généraux secondaires : céphalées, courbature, douleurs osseuses, etc., ont toujours cédé aux premières injections.

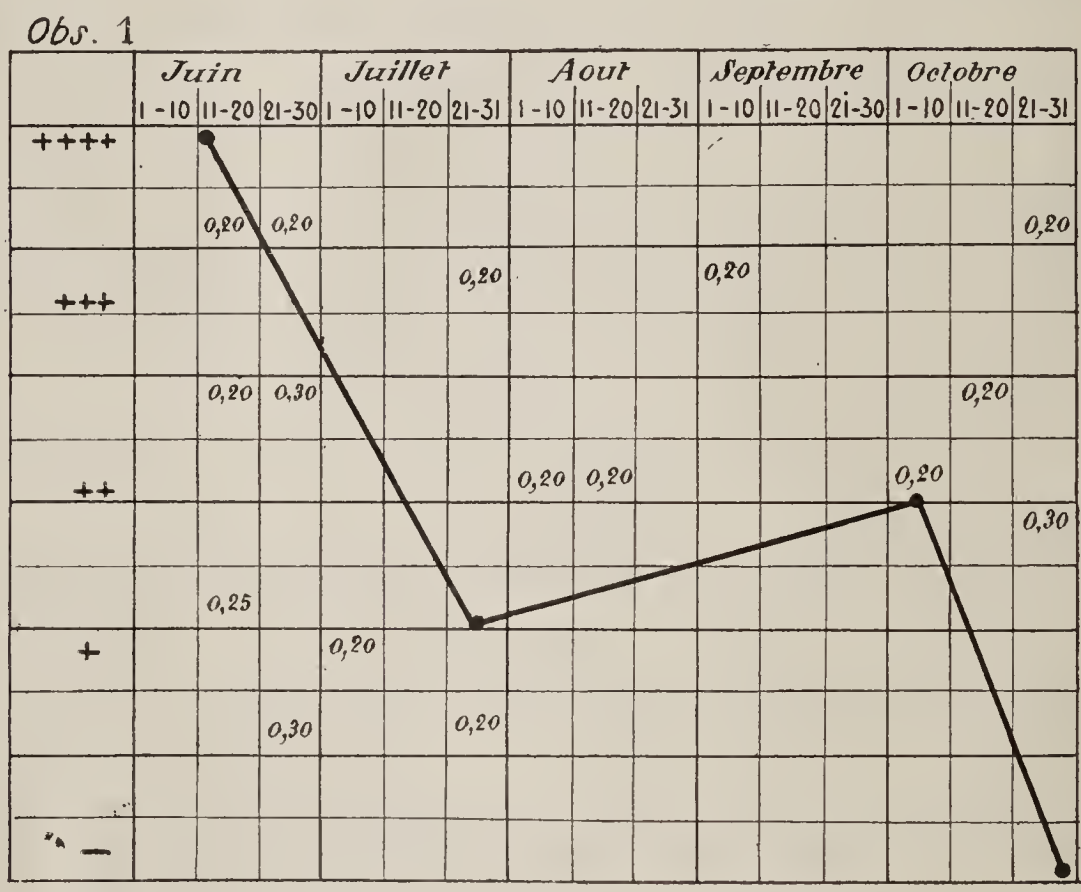
Nous devons une mention particulière à huit de nos malades mis au traitement bismuthé pour des accidents récidivants, malgré un traitement arsenical et mercuriel (l'un d'eux en cinq ans, a reçu plus de 700 injections d'arsenic ou de mercure). Chez tous, les accidents ont guéri normalement. Un malade, syphilitique depuis mai 1919, qui n'était jamais resté plus de six semaines sans accident, n'en a plus présenté depuis le

début de juillet (quatre mois), date à laquelle furent faites les premières injections de bismuth.

Nous devons encore signaler un cas de *méningite syphilitique aiguë*, où tous les symptômes : céphalée, raideur de la nuque, Kernig, etc., ont disparu après 3 ou 4 injections, en même temps que, parallèlement, la lymphocytose rachidienne passait de 400 éléments le premier jour à 35 le cinquième jour, à 12 le dixième jour et 7 le quinzième.

Observation I. — *Lequ...*, vingt-trois ans. Gros chancre sous-préputial, chancre du limbe, phimosis ; papules disséminées. Adénopathie. Tréponèmes. Wassermann : + + + +.

Traitement. — Du 12 juin au 30 juin : 1 gr. 75 de bismuth en 7 injections.



Courbe 5.

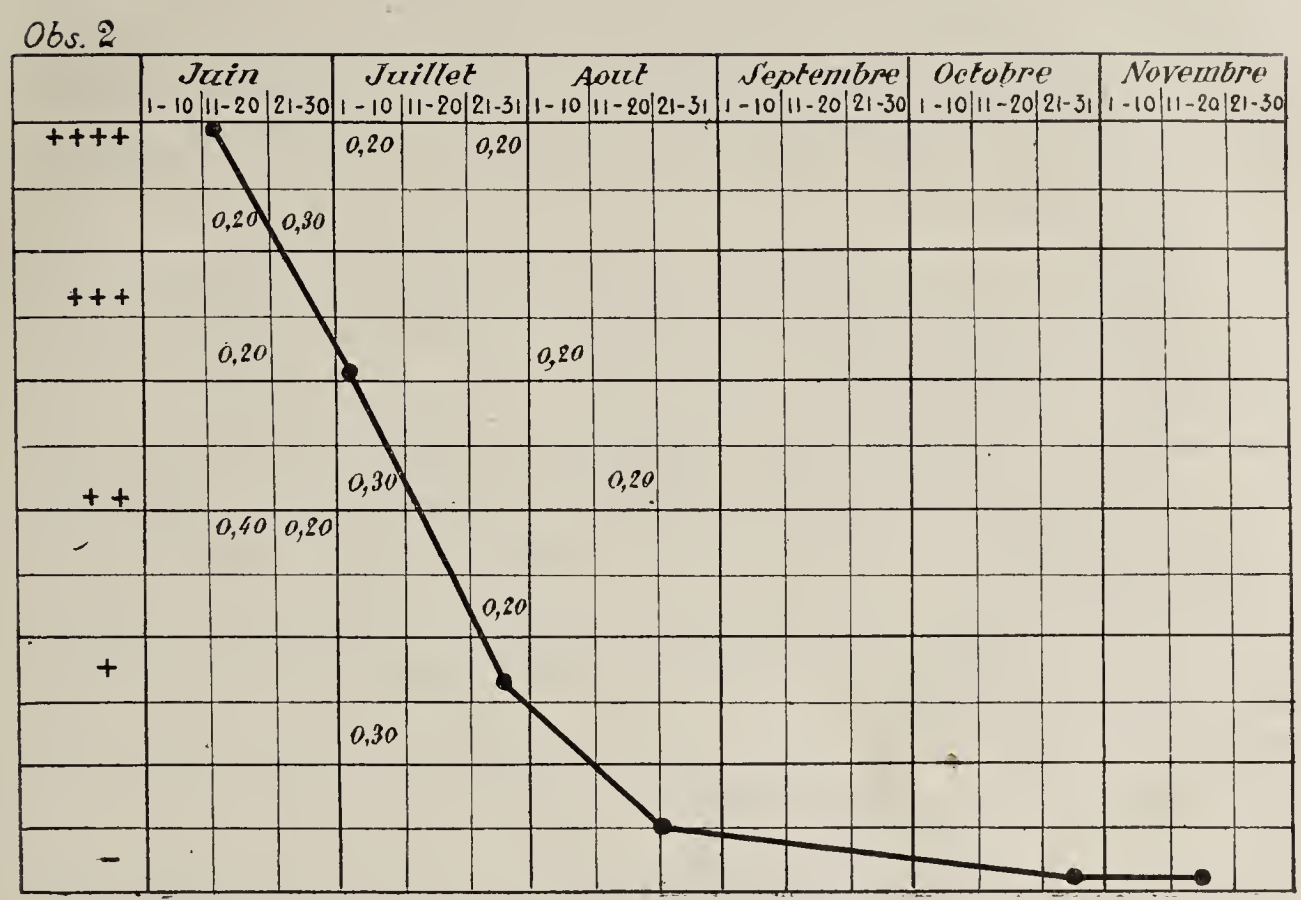
Interruption à cause de gingivite. Du 23 juillet au 1er septembre : 1 gramme en 5 injections ; du 4 octobre au 27 octobre : 0 gr. 90 en 4 injections.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la deuxième injection, au niveau du chancre et dans les ganglions. Guérison du phimosis et cicatrisation des chancres en treize jours ; l'infiltration du prépuce et l'induration de la rainure persistent un mois. Disparition des papules en dix jours.

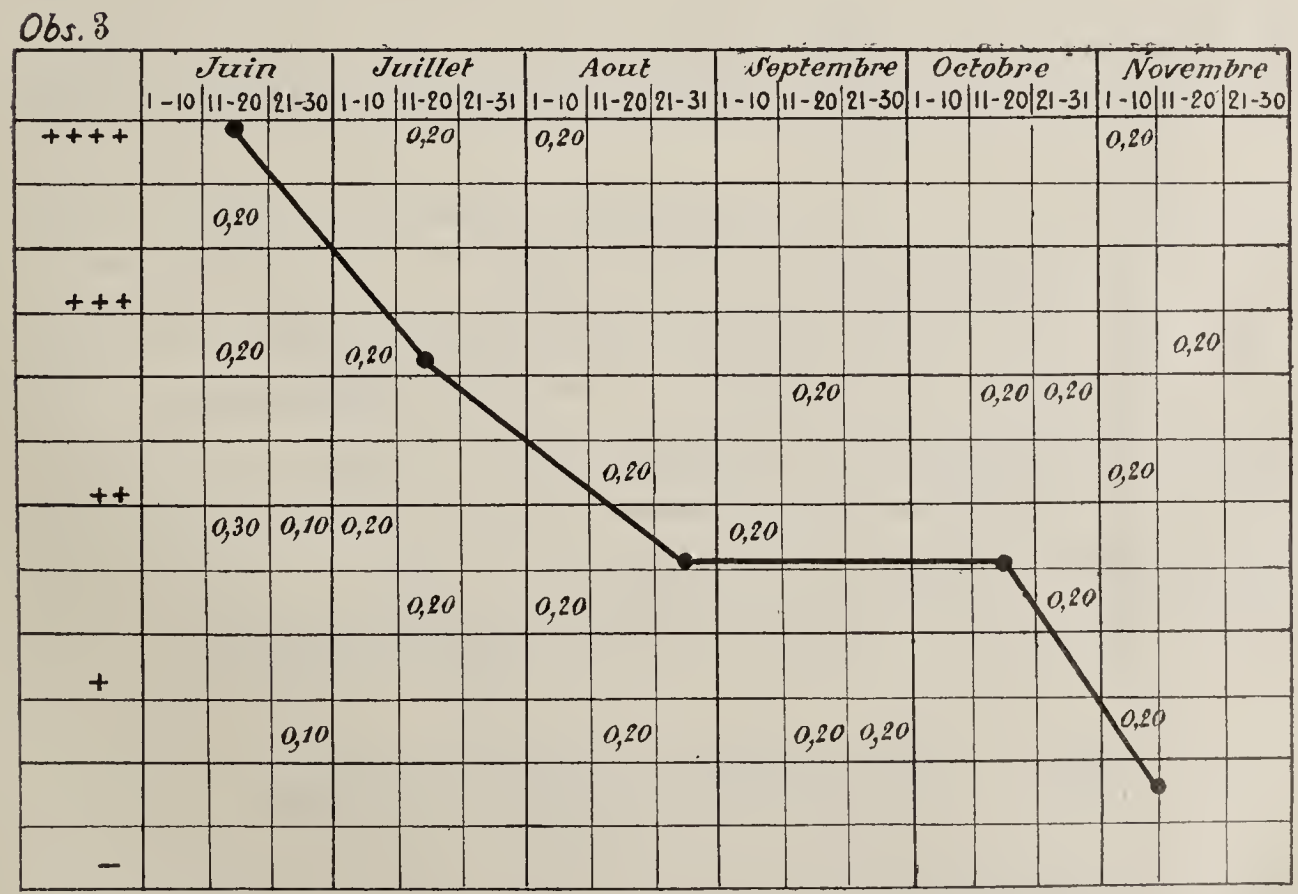
Wassermann : + le 23 juillet ; + + le 6 octobre ; — le 27 octobre (courbe 5).

Observation II. — *La Pas...*, quarante-huit ans. Chancre ulcéreux du méat ; plaques balano-préputiales ; quelques papules lenticulaires du tronc et des membres. Tréponèmes. Wassermann : + + + +.

Traitement. — Du 12 juin au 10 juillet : 2 gr. 10 de bismuth en 8 injections ;



Courbe 6.



Courbe 7.

du 21 juillet au 15 août : 0 gr. 80 en 4 injections. Très fort liseré gingival; légère stomatite n'ayant pas interrompu le traitement.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la deuxième injection. Disparition des papules en huit jours. Cicatrisation complète du chancre ulcéreux en vingt-trois jours.

Wassermann : + + + le 6 juillet; + le 28 juillet; — les 23 août, 27 octobre, 16 novembre (courbe 6).

Observation III. — *Fo...*, trente et un ans. Syphilis de trois mois, non traitée. Plaques génito-crurales, condylomes péri-anaux, adénite bi-inguinale. Tréponèmes. Wassermann : + + + +.

Traitement. — Du 12 juin au 18 juillet : 1 gr. 70 en 9 injections; du 1er août au 13 novembre : 3 grammes en 15 injections pratiquées à intervalles irréguliers. Gingivite banale avant le traitement; stomatite de moyenne intensité après la troisième injection. Très forte pigmentation, surtout au niveau des dents cariées.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la deuxième injection. Epidermisation de toutes les lésions en huit jours; affaissement des condylomes en vingt-cinq jours.

Wassermann : + + + le 4 juillet et le 28 juillet; + + le 30 août et le 15 octobre; + le 14 novembre (courbe 7).

Observation V. — *Ver...*, vingt-six ans. Plaques muqueuses du voile et des amygdales, plaques balano-préputiales; accidents survenus malgré un traitement arsenical (4 gr. 05 de néosalvarsan du 24 avril au 7 juin) et un traitement mercuriel (pilules de proto-iodure d'Hg du 10 au 25 juin). Wassermann : + + + +.

Traitement. — Du 30 juin au 9 août : 2 gr. 30 de bismuth en 9 injections.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la deuxième injection. Cicatrisation de tous les accidents en onze jours. Pas de récidive.

Wassermann : + le 27 juillet; — le 7 septembre et 10 octobre; + + le 16 novembre. (Traitement très insuffisant et interrompu depuis plus de trois mois, va être repris) [courbe 8].

Observation VII. — *Er...*, trente ans. Syphilis de trois mois non reconnue et non traitée. Plaques opalines des piliers et du voile, syphilides palmaires et plantaires. Céphalée. Wassermann : + + + +.

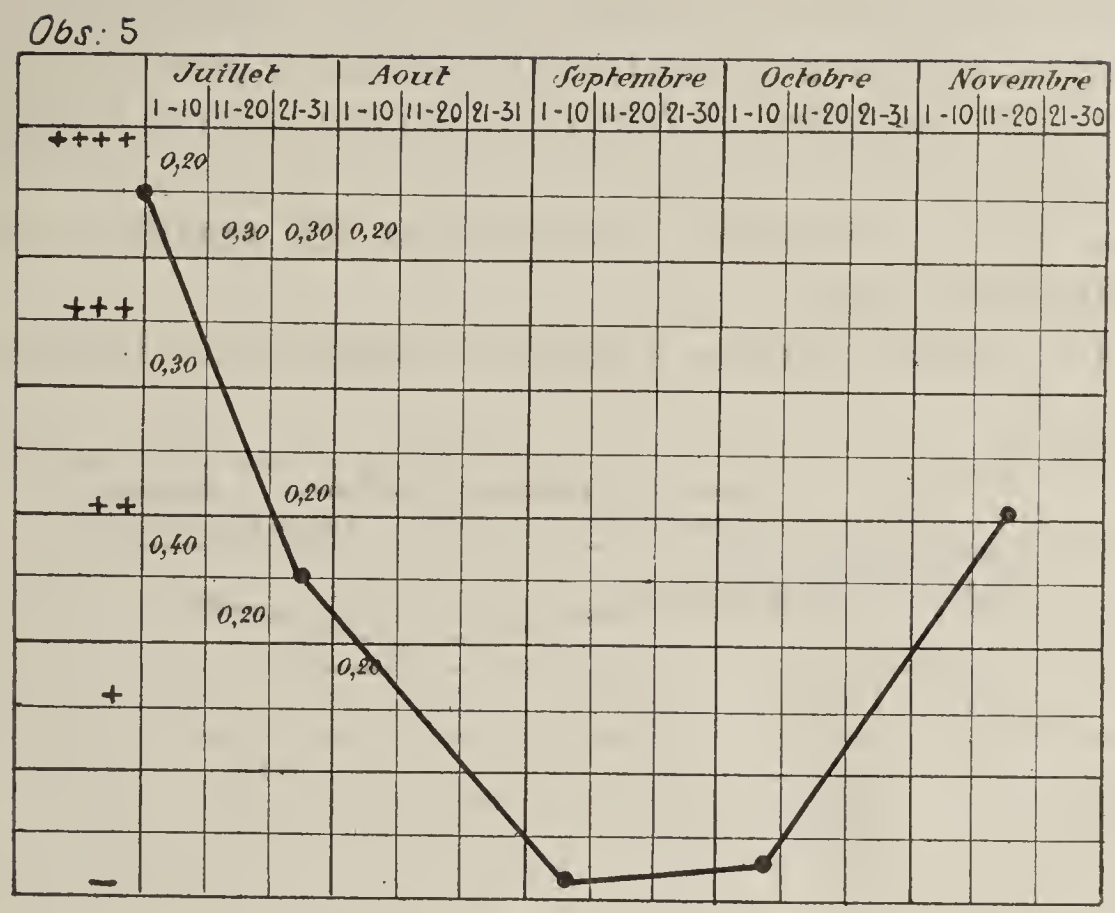
Traitement. — Du 2 juillet au 30 août : 3 grammes de bismuth en 13 injections d'abord bi-hebdomadaires, puis hebdomadaires; du 22 septembre au 15 novembre : 1 gr. 60 en 6 injections.

Résultats. — Disparition de la céphalée et des accidents buccaux en quelques jours. Disparition des syphilides palmaires en onze jours et des syphilides plantaires en quatorze jours.

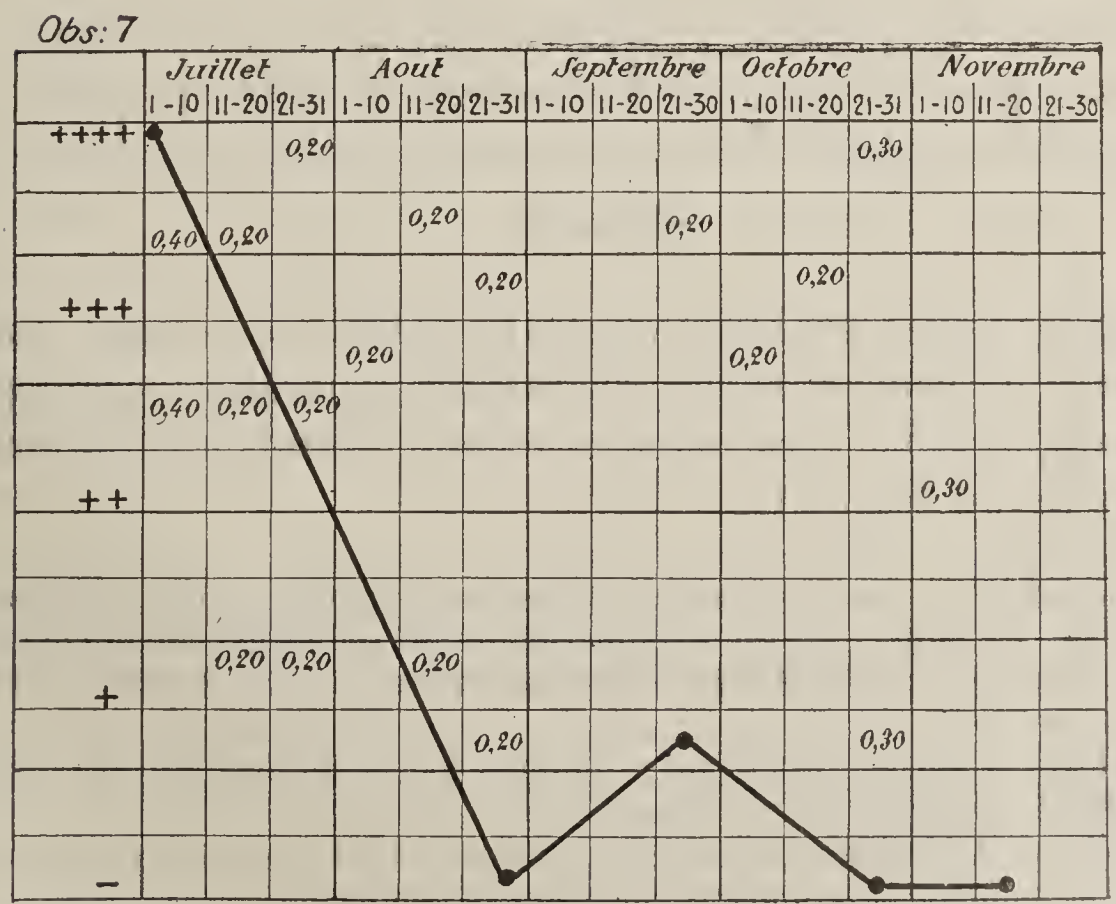
Wassermann : — le 30 août; + le 2 septembre, après trois semaines d'interruption du traitement; — les 21 octobre et 18 novembre (courbe 9).

III. — Action sur la syphilis tertiaire.

Le traitement bismuthé a agi le plus souvent d'une façon remarquablement rapide sur les accidents divers de la syphilis



Courbe 8.

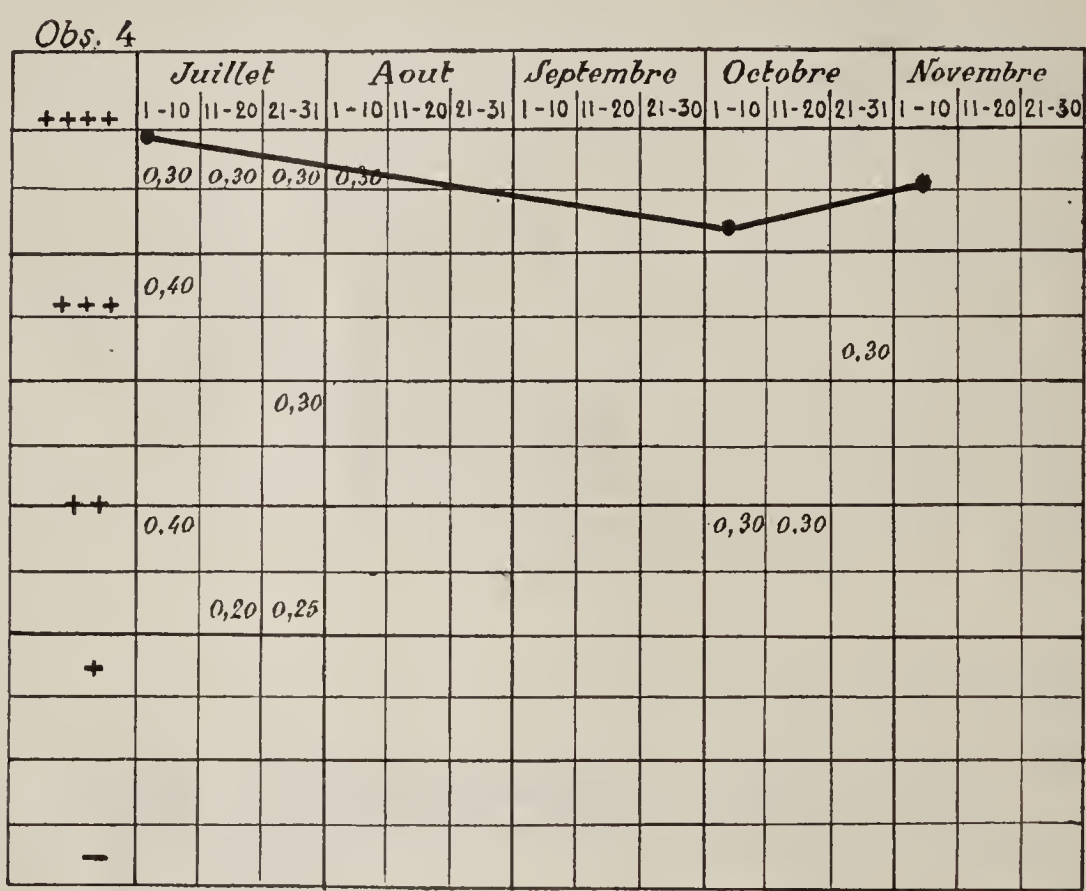


Courbe 9.

tertiaire : gommes, ostéopériostites, vastes placards cutanés ulcéreux, pustuleux et croûteux, etc.; dans quelques cas un peu plus lentement, quoique très nettement, en particulier chez deux malades porteurs d'*ulcérations gommeuses* des membres inférieurs.

Deux cas de *leucoplasie linguale* ont été améliorés, sans disparition des lésions.

Nous ne pouvons encore porter un jugement sur l'action du



Courbe 10.

bismuth dans les syphilis viscérales (aortites, ectasies aortiques) ou nerveuses (tabes, paralysie générale, paraplégies spasmodiques, etc.), les malades n'étant soumis au traitement que depuis un temps trop court.

Observation IV. — *Lah...*, quarante-trois ans, syphilis en 1918 : traitement mercuriel. — 1er juillet : grosse ostéopériostite du radius gauche depuis deux mois, en voie de ramollissement ; aggravation progressive. Périostite tibiale. Wassermann : ++++.

Traitement. — Du 1er juillet au 1er août, 2 gr. 75 de bismuth en 9 injections. Liseré gingival ; pas de stomatite.

Résultats. — Amélioration rapide et considérable de tous les phénomènes objectifs et subjectifs ; le malade part pour la campagne.

7 octobre : l'aspect et le volume de l'avant-bras sont normaux ; le malade fait son métier d'emballeur sans aucune fatigue.

Les examens radiographiques pratiqués avant le traitement et le 7 octobre montrent la guérison des lésions par formation d'os compact.

Wassermann reste positif le 7 octobre et le 6 novembre. Le traitement, il est vrai, a été très insuffisant (courbe 10).

Observation VII. — *Fa...*, quarante et un ans. Syphilis en 1894, jamais soignée. Vaste placard ulcéro-croûteux à bords circinés, occupant la plus grande étendue des régions scapulaire, dorsale et axillaire droite. Wassermann : + + + +.

Traitement. — Du 12 juillet au 16 août, 2 gr. 40 de bismuth en 10 injections. Gingivite banale antérieure au traitement, très peu accentuée par celui-ci.

Résultats. — Epidermisation complète de toutes les lésions en dix jours ; atténuation rapide des cicatrices.

Wassermann : + + + le 16 août.

Observation III. — ... Syphilis ignorée. Ulcération gommeuse de la région antéro-interne de la jambe droite ; lymphangite légère. Wassermann : + +.

Traitement. — Du 29 juin au 13 juillet : 1 gr. 40 de bismuth en 5 injections. Interruption pour forte stomatite pendant treize jours.

Du 27 juillet au 2 août, 0 gr. 60 en 3 injections ; du 3 septembre au 18 novembre, 2 grammes en 10 injections (une injection par semaine).

Résultats. — Cicatrisation de l'ulcération gommeuse en vingt-cinq jours.

Wassermann : + + le 23 septembre ; + le 29 octobre.

IV. — Action sur l'évolution de la syphilis et la réaction de Wassermann.

Tantôt rapide, tantôt plus lente, l'action du bismuth sur les accidents en activité est donc indéniable ; elle nous a semblé jusqu'à ce jour assez durable. *En effet, jusqu'ici, aucun de nos malades n'a présenté de nouveaux accidents* ; aucun *chancre traité avant l'apparition de la roséole, même s'il datait de plus d'un mois, n'a été suivi d'accidents secondaires.* Et si, chez quelques-uns, le traitement a été continué par précaution, il a été suspendu complètement chez quatre d'entre eux depuis trois mois.

Nous avons soigné un homme ayant eu des rapports avec une syphilitique contagieuse (plaques vulvaires) ; il ne présente, deux mois après la contamination possible, aucune lésion, et la réaction de Wassermann est restée négative.

L'étude de la réaction de Wassermann montre que l'action cicatrisante superficielle du bismuth s'accompagne d'une action profonde sérologique. Nous n'avons eu à traiter que deux malades porteurs de chancres jeunes, avant l'apparition des

signes sérologiques; la réaction de Wassermann est restée négative après la première série de piqûres, mais les malades n'ont pas encore été revus.

17 chancres ont reçu leur première injection, alors que le Wassermann n'était encore que faiblement ou partiellement positif. Chez 10 de ces malades le Wassermann est actuellement négatif; il est très atténué chez les autres.

Sur 18 chancres avec un Wassermann positif, 6 sont complètement négatifs, presque tous les autres sont atténués. Il est rare que le Wassermann devienne négatif dès la première série de piqûres; le plus souvent il s'atténue peu à peu, pour n'être négatif que du deuxième au quatrième mois.

Aucun des malades traités pendant la période secondaire n'a eu le Wassermann négatif après la première série de piqûres. Il est même de règle qu'à la fin du premier mois il reste complètement positif. Pourtant, dès cette époque, la réaction peut marquer un fléchissement plus ou moins accentué. Ce fléchissement devient général dans la suite, et sur 16 secondaires suivis régulièrement depuis au moins trois mois, 2 seulement ont conservé un Wassermann complètement positif; chez 7 autres il est devenu partiellement ou faiblement positif, et, chez les 7 derniers, il est devenu négatif (une fois dès le second mois, deux fois dans le troisième, deux fois dans le quatrième et deux fois dans le cinquième mois).

Nous ne pouvons tirer encore aucune conclusion de l'étude sérologique dans la syphilis tertiaire.

V. — Mode d'emploi et doses.

Les premières injections faites par MM. Sazerac et Levaditi avec des solutions aqueuses de tartrobismuthate de sodium et de potassium ayant été trop douloureuses, c'est le tartrobismuthate insoluble, en suspension dans l'huile d'olive à 10 p. 100, que nous avons surtout employés. Nous nous sommes servi également du citrate ammoniacal en solution aqueuse.

Les injections bismuthées, douloureuses dans le tissu cellulaire sous-cutané, doivent être strictement intramusculaires et faites avec toutes les précautions d'usage que comportent en particulier les injections huileuses. S'il s'agit d'une solution

aqueuse de citrate, il faut également être sûr de n'avoir pas pénétré dans une veine profonde, la toxicité de ce sel étant incomparablement plus grande en injections intraveineuses.

La toxicité des préparations de bismuth a été étudiée par MM. Sazerac et Levaditi; nous n'y reviendrons pas.

Nous avons d'abord essayé d'employer le bismuth, comme l'arsenic, à doses croissantes; mais nous avons bientôt dû y renoncer, les risques de stomatite étant beaucoup trop grands aux doses de 40 centigrammes. Nous conseillons donc de ne dépasser qu'exceptionnellement la dose de 30 centigrammes en une seule piqûre, et encore cette dose sera-t-elle réduite à 20 et même 10 centigrammes chez les malades âgés ou débilités, et chez ceux présentant une mauvaise dentition.

Il n'est pas encore possible de fixer d'une façon définitive la posologie du bismuth comme agent spécifique. Il nous semble pourtant que, pour une première cure d'attaque, on doive injecter de 2 à 3 grammes dans le mois, soit une moyenne quotidienne de 10 centigrammes. Ceci peut se réaliser pratiquement en faisant, après 2 ou 3 injections à 20 centigrammes, une injection bihebdomadaire de 30 centigrammes. Aucune précaution n'est à réclamer du malade qu'une bonne hygiène buccale.

Après cette première cure, on pourra ou continuer le traitement, mais avec une seule injection hebdomadaire de 20 ou 30 centigrammes, ou suspendre le traitement un mois, pour le reprendre ensuite comme au début. Dans l'un et l'autre cas, on suivra le progrès de la guérison par l'examen du sang, et, bien entendu, le traitement devra être continué jusqu'à la disparition de la réaction positive. Il sera même sans doute prudent de ne pas le cesser dès que le Wassermann sera négatif; mais de toute façon il est nécessaire de vérifier souvent et régulièrement l'état sérologique de chaque malade.

VI. — Accidents et inconvénients.

Nous avons fait à l'heure actuelle plus de 1.500 injections de bismuth sans avoir observé un seul accident réellement important. Il faut, il est vrai, remarquer que les malades que nous avons traités jusqu'ici présentaient un bon état

général. Sans doute conviendra-t-il d'user de prudence vis-à-vis de malades atteints de lésions viscérales graves, vis-à-vis surtout de ceux dont les fonctions rénales sont profondément altérées.

Si l'on excepte une élévation de quelques dixièmes de degré, qui, dans quelques cas, se produit le lendemain de l'injection, et s'accompagne d'un peu de fatigue et de courbature, on n'observe aucune réaction générale au cours du traitement.

Après quelques injections, apparaît une polyurie de moyenne intensité (2 litres, 3 litres), ordinairement de courte durée. Rarement les urines contiennent une petite quantité d'albumine le lendemain de l'injection. La teneur du sang en urée est restée normale dans les quelques cas où la recherche en a été pratiquée. Les fonctions digestives ne sont en aucune manière troublées; seul un tabétique, ayant reçu 6 injections, a été atteint d'un ictère catarrhal, à évolution bénigne, qui n'était d'ailleurs peut-être nullement dû au bismuth.

Un assez grand nombre de malades maigrissent un peu au cours du traitement, pour reprendre ensuite rapidement leur poids normal.

En raison des opacités cornéennes signalées par M. Balzer sur un des animaux intoxiqués par le bismuth, nous avons fait examiner par M. Cantonnet un certain nombre de malades au cours ou à la fin de leur traitement; dans aucun cas la moindre altération de l'œil n'a été observée.

Aux doses où nous l'avons administré, le bismuth s'est donc montré dépourvu de toxicité.

Le traitement présente toutefois des inconvénients de deux ordres, les uns locaux, tenant aux injections mêmes, les autres dus à la localisation du bismuth sur la muqueuse buccale.

Les injections intramusculaires de tartro-bismuthate en suspension huileuse sont ordinairement bien supportées par les malades. Quelques-uns accusent cependant des douleurs vives pendant deux ou trois jours après la piqûre. Parfois il se produit même une réaction locale assez intense, avec rougeur et gonflement; mais ceci surtout chez les malades subissant le traitement ambulatoire, et qui ont marché plus ou moins longtemps immédiatement après l'injection.

Chez 2 ou 3 malades nous avons noté la production, au

niveau de quelques injections, de kystes contenant un liquide filant et huileux.

Mais tous ces accidents locaux sont vraiment peu importants, et se terminent par résorption complète.

L'inconvénient le plus fréquent du traitement est l'*imprégnation de la muqueuse buccale par le bismuth*, et la *stomatite* qui la complique souvent, si l'on n'y veille avec attention.

Presque tous les malades présentent, après quelques injections, un liséré noirâtre du rebord gingival, fort semblable au liséré saturnin, et accompagné le plus souvent, d'une légère tuméfaction à ce niveau. Ce liséré est tantôt partiel, plus marqué d'un côté ou au niveau de certaines dents, tantôt festonnant assez régulièrement les arcades dentaires.

La teinte bleu noirâtre s'accuse d'ordinaire très fortement au niveau des mauvaises dents et des chicots.

Dans quelques cas on voit apparaître, à la face interne des joues et des lèvres, une ou plusieurs taches noires sans tuméfaction notable de la muqueuse ; parfois aussi la langue tout entière prend une légère teinte bleuâtre, surtout accusée sur le dos et sur les bords.

Cette imprégnation bismuthique de la bouche, qui, malheureusement, est assez persistante, peut ne s'accompagner — quand la dentition est bonne et les règles de l'hygiène buccale bien observées — d'aucune manifestation inflammatoire. Mais, dans le cas contraire, on voit souvent se produire une véritable stomatite présentant une certaine analogie avec la stomatite mercurielle, du moins dans ses formes légères ou moyennes.

On voit ici aussi apparaître les gingivites partielles, les « stomatites d'alarme », telles que les a décrites le professeur Fournier : gingivite rétromolaire, gingivite médiane inférieure, gingivite périphérique au niveau des dents cariées ou des chicots, stomatite génienne atteignant la muqueuse de la joue, le plus souvent au niveau de la dernière grosse molaire, quelquefois aussi au niveau des dents cariées.

Ces stomatites sont et restent le plus ordinairement très légères et très bénignes ; nous avons toujours, il est vrai, dès leur apparition, suspendu pour quelques jours ou modéré le traitement. Dans quelques cas cependant où les doses injectées d'emblée avaient été un peu fortes (0 c.c. 40), nous avons

observé des formes plus intenses, avec production, sur les gencives et la muqueuse des joues ou des lèvres, d'érosions et d'ulcérations couvertes d'un enduit diphtéroïde, grisâtre, avec œdème assez prononcé et adénopathie; chez un malade ces lésions étaient localisées du côté droit, côté du décubitus habituel.

Dans ces cas, le malade n'accuse plus seulement, comme dans les formes légères, un peu d'agacement des gencives, mais de véritables douleurs, bien moindres cependant que celles de la stomatite mercurielle. L'haleine n'a jamais la fétidité caractéristique de celle-ci ; nous n'avons observé qu'une salivation très modérée; enfin les phénomènes généraux, fièvre, courbature, anorexie, soif, insomnie, etc., n'ont jamais présenté, chez aucun de nos malades, d'importance réelle et ont disparu en quelques jours, parallèlement à la guérison rapide des lésions buccales. *Aucun de nos malades atteints de stomatite n'a eu d'albuminurie notable.*

Somme toute, *la stomatite bismuthique, que provoque le traitement tel que nous l'avons appliqué, a toujours été très bénigne.* Assez fréquente à l'hôpital, très rare chez les malades de la ville, ses causes principales sont la carie dentaire et l'absence de soins hygiéniques de la bouche.

Elle reconnaîtra donc les mêmes conditions pathogéniques que la stomatite mercurielle et l'examen bactérioscopique montre qu'elle est, comme celle-ci, due le plus ordinairement et principalement à une *infection fuso-spirillaire.*

Dans l'enduit diphtéroïde qui recouvre les érosions ou les ulcérations, l'association fuso-spirillaire est souvent pure, parfois aussi mêlée à des cocci ou à d'autres espèces bactériennes, quand les lésions sont un peu profondes.

La salive des malades contient du bismuth, mais sous une forme (probablement du sulfure) dépourvue de propriétés spirillicides.

L'application de tartrobismuthate en poudre, que nous ont conseillée MM. Sazerac et Levaditi, suffit à faire disparaître l'infection fuso-spirillaire et à guérir la stomatite ; divers antiseptiques, le bleu de méthylène, les lavages fréquents à l'eau oxygénée, et surtout les applications des composés arsenicaux au niveau des lésions, sont aussi à ce point efficaces qu'il

nous a été possible dans quelques cas de voir guérir la stomatite malgré la continuation des injections de bismuth.

Il est néanmoins préférable d'espacer les injections et d'en diminuer les doses dès qu'apparaît une « stomatite d'alarme ».

D'ailleurs, dans la plupart des cas, les soins préalables de la bouche et des dents et une bonne hygiène buccale suffisent, nous le répétons, à prévenir tout accident inflammatoire.

VII. — Élimination du bismuth.

Grâce à la sensibilité du réactif de Léger, heureusement modifié par notre interne en pharmacie M. Aubry, qui substitue la quinine à la cinchonine dans la solution iodurée, la recherche du bismuth est facile, puisqu'il peut être décelé en solution au 1/600.000.

Chez nos malades en traitement, MM. Aubry et Démelin ont retrouvé le bismuth dans le *sang*, le *liquide céphalo-rachidien* (méningite aiguë, tabes) ; ils ont constaté son élimination par la *salive*, la *bile*, les *fèces*, la *sueur*, l'*urine*.

L'élimination par l'*urine* est surtout importante à observer : elle commence à se produire de dix-huit à vingt heures après l'injection, et se prolonge jusqu'à vingt et trente jours après un traitement moyen (2 gr. à 2 gr. 50).

L'élimination du bismuth par les urines s'accuse, dans la plupart des cas, par la production d'un dépôt noir assez abondant s'attachant aux parois du bocal. L'analyse de ce dépôt, faite par M. Aubry, a montré qu'il s'agissait de sulfure de bismuth.

Ce n'est point au moment de l'émission que se fait la précipitation de sulfure de bismuth, mais plusieurs heures après; elle est, nous semble-t-il, attribuable à la fermentation des urines. En effet, nous avons, avec M. Schwartz, réparti en trois tubes et fait stériliser, peu après son émission, de l'urine d'un malade en traitement; dans l'un des tubes, débouché et exposé à l'air, le dépôt s'est formé le lendemain ; il s'est aussi produit, et plus rapidement, dans un second tube ensemencé avec de l'urine d'un bocal où le précipité de sulfure de bismuth s'était formé; enfin dans le tube témoin l'urine est restée indéfiniment claire et sans dépôt noir.

Nous ne savons pas sous quelle forme, décomposable par la fermentation, s'élimine le bismuth. Notons seulement que notre élève M. Démelin a trouvé très souvent, dans les urines présentant le dépôt noir, une grande quantité d'indol.

Nous n'avons pas eu l'occasion de soumettre au traitement bismuthé des malades atteints de néphrite ; il est possible que des lésions rénales, même légères, entraînent une imperméabilité plus ou moins prononcée pour le bismuth. Chez de tels malades, les injections devront être faites avec la plus grande prudence.

Conclusions.

Les différentes préparations de bismuth que nous avons employées en injections intramusculaires à la dose moyenne de 20 à 30 centigrammes par injection et à la dose totale de 2 à 3 grammes pour une série de 10 à 12 injections, en un mois environ, se sont montrées dépourvues de toxicité véritable et n'ont amené chez aucun de nos malades d'accident important.

Les inconvénients du traitement sont :

1° Quelques phénomènes réactionnels au niveau des piqûres;

2° L'imprégnation à peu près constante de la muqueuse buccale, se traduisant par un liseré gingival, parfois des plaques géniennes noires et une teinte légèrement bleutée de la langue, et s'accompagnant dans quelques cas d'une stomatite bénigne, facilement évitable et facilement curable.

Le bismuth peut être retrouvé dans le sang, le liquide céphalo-rachidien ; il s'élimine par les urines, les fèces, la bile, la salive, la sueur.

Le bismuth est un agent antisyphilitique des plus énergiques. D'une part il exerce une action rapide et durable sur la plupart des manifestations de la syphilis, et tout particulièrement sur les manifestations contagieuses, d'où sa valeur considérable au point de vue de la prophylaxie sociale.

D'autre part le traitement bismuthé produit dans presque tous les cas une atténuation marquée et même la disparition

complète de la séro-réaction positive après la première, ou surtout après la deuxième série d'injections.

Des observations nombreuses et longtemps prolongées pourront seules montrer si le bismuth est capable de guérir totalement et définitivement la syphilis. Les faits que nous avons observés nous font penser que MM. Sazerac et Levaditi ont découvert dans le bismuth une arme des plus puissantes contre le fléau syphilitique.

NOTE CONCERNANT LE TRAITEMENT DES SYPHILIS NERVEUSES PAR LE TARTROBISMUTHATE DE SOUDE ET DE POTASSE

par A. MARIE et M. FOURCADE.

MM. Sazerac et Levaditi ont préconisé le tartrobismuthate de soude et de potasse dans le traitement de la syphilis.

Avec ce produit nous avons traité 20 cas de syphilis nerveuse : 10 cas de paralysie générale classique, chez des hommes de trente-six à quarante-six ans, cas très avancés et parvenus à la troisième période; 10 cas de syphilis des centres nerveux et de la moelle (gommes cérébrales, artérites, myélites transverses, tabéto- P. G., pseudo- P. G. et états démentiels par syphilis cérébrale).

Dans un cas l'affection organique était compliquée d'un délire polymorphe chez un homme de quarante-six ans, paraplégique ; dans un autre il y avait affaiblissement démentiel chez un homme de quarante-huit ans, hémiparétique ; deux aphasies par gomme probable de la région sylvienne ; deux hémiplégiques par artérite spécifique; deux tabéto- P. G. ; un tabes simple chez la conjointe de l'un des cas précédents; enfin un ménage de spécifiques à manifestations nerveuses : chez l'homme, diplopie avec troubles oculo-pupillaires, irritabilité psychique avec activité incohérente et gomme ancienne de la voûte palatine ; chez la femme, tabes auditif fruste et troubles oculo-pupillaires.

La série des paralytiques généraux comportait quelques malades internés à l'asile Sainte-Anne, où nous les avons soumis au traitement, mais nous ne pouvons en donner encore aucun résultat net et biologiquement confirmé, le traitement ayant été appliqué trop récemment. Dans tous ces cas la réaction de Bordet-Wassermann était positive soit dans le liquide céphalo-rachidien, soit dans le sang.

La technique employée a été la même : 1 c. c. 1/2 en injection intramusculaire tous les cinq jours, jusqu'à concurrence de 20 piqûres, ce qui représente environ 3 grammes de sel pour chaque malade. Chez les paralytiques généraux à état général fléchissant, nous avons réduit la dose de moitié.

Aucun accident ni incident n'a été constaté au cours du traitement. Seule l'apparition d'un léger liséré gingival nous a paru devoir lui être imputable. Une certaine sensibilité de la bouche et des glandes parotides salivaires et sublinguales sont à mettre sur le compte de l'élimination du bismuth, mais on ne saurait voir là des signes d'intoxication susceptibles de faire suspendre le traitement, pas plus que pour la stomatite mercurielle.

Le résultat a paru nul chez les *paralytiques généraux* qui étaient en pleine période d'état, quand nous avons commencé le traitement. Trois sont morts de cachexie paralytique à marche rapide, sans que le traitement parût avoir une action utile ou nuisible, deux autres restent dans un état mental et physique très précaire, bien que pouvant se lever après une période de gâtisme avec eschares (celles-ci sont en voie de cicatrisation). La fréquence de telles rémissions relatives, en dehors de tout traitement, nous empêche d'y voir un avantage au compte du bismuth. Chez plusieurs malades la réaction au traitement par le bismuth réveilla des épisodes mentaux (irritabilité, confusion hallucinatoire, excitation).

Sur les *démences délirantes* le résultat paraît plus frappant et un malade semble en avoir retiré un bénéfice réel. L'état général s'est en effet considérablement amélioré, les idées délirantes se sont atténuées, en même temps qu'on constatait un relèvement appréciable du niveau intellectuel et une amélioration de l'hémiparésie.

Dans la *démence simple*, l'état physique s'améliore, et en particulier les phénomènes paraplégiques, en même temps que l'affaiblissement intellectuel semble rétrocéder.

Aucun phénomène d'intoxication n'ayant été constaté sur nos malades, bien que l'état général de certains d'entre eux fût des plus précaires, il y aurait intérêt à tenter des traitements plus énergiques, en rapprochant les piqûres et en augmentant les séries.

La réaction de Bordet-Wassermann dans le liquide céphalo-rachidien n'a été influencée dans aucun cas.

La présence du bismuth dans les urines a pu être constatée. La teinte brune de certaines urines permet d'y prévoir la présence du médicament; elle apparaît en général vers la sixième piqûre. Des maux de tête et des vertiges ont été signalés, mais ils sont supportables et ne persistent pas si le rein est perméable.

Les irradiations, sensibles au niveau des gencives et des dents, ainsi qu'au niveau des glandes salivaires, paraissent en rapport évident avec l'élimination du bismuth par la bouche. Elles rappellent ce qui se produit avec le mercure et impliquent des précautions analogues contre la gingivite.

Au demeurant, l'emploi des bismuthates, si favorables dans les syphilis initiales, comme l'ont pu établir MM. Sazerac et Levaditi, Fournier et Guénot, nous semble également précieux dans les cas de syphilis centrale (neurotropes selon notre hypothèse), *à la condition qu'il s'agisse de manifestations localisées, plutôt que des syphilis diffuses du type P. G. avancées.*

Les gommes des centres nerveux, les artérites et certaines névrites paraissent rapidement influencées. Après cinq ou six piqûres et lorsque apparaît le bismuth dans les urines, il semble que les parties antérieurement touchées par l'infection soient sensibilisées par le médicament, en ce sens que les douleurs fulgurantes reparaissent, ainsi que les céphalées et les douleurs ostéocopes, pour s'amender rapidement ensuite. De même se réactivent parfois certains syphilomes muqueux ou cutanés, certaines cicatrices même du chancre primitif, qui se soulignent et deviennent prurigineuses temporairement chez de très anciens spécifiques.

Il apparaît dès à présent qu'un contraste s'établit entre les paralytiques généraux purs et les autres syphilis anciennes des centres nerveux. A ce point de vue, le bismuth paraît se comporter comme le novarsénobenzol et le mercure; il ne semble pas modifier le Bordet-Wassermann du liquide céphalo-rachidien, bien qu'il améliore nettement le Bordet-Wassermann sanguin.

Bien entendu cette première impression, d'une moindre vulnérabilité du spirochète neurotrope des paralytiques généraux au bismuth, ne saurait détourner d'un essai prolongé de ce

traitement. Nos premières applications dans ce sens n'ont pu encore donner de résultats décisifs dans la périméningo-encéphalite diffuse. Il resterait à tenter le traitement au bismuth à la période préparalytique et dans le tabes ascendant, à une époque de la maladie et dans des conditions où l'on puisse espérer atteindre le spirochète, avant qu'il n'ait forcé les défenses cérébrales et opéré des destructions irréparables. Ce serait plutôt la prophylaxie de la paralysie générale que son traitement.

A l'appui des considérations qui précèdent, nous nous bornerons à résumer ici deux observations de syphilis des centres nerveux influencés par le traitement au bismuth, nous réservant de revenir plus tard sur la thérapeutique bismuthée de la parasyphilis.

Observation I. — *M. Lar...*, quarante-six ans, démence par syphilis cérébrale.

1er juillet, réaction de Bordet-Wassermann positive dans le sang ; le malade a été traité par toutes les méthodes. Abolition des réflexes rotuliens et achilléens. Inégalité pupillaire ; myosis ; signe d'Argyll. Tremblements des membres et de la langue. Léger embarras de la parole. Parésie des membres inférieurs ; démarche titubante. Arthrite ankylosante du genou gauche et du poignet droit. Affaiblissement global des facultés intellectuelles. Euphorie niaise combinée à un délire polymorphe, avec prédominance des idées de persécution ; préoccupations hypocondriaques et syphilophobie.

Début du traitement le 4 juillet 1921 : 0 gr. 15 tous les cinq jours ; 20 piqûres.

Le 8 octobre la série est terminée. On constate : amélioration de l'état général et engraissement, disparition de la parésie des membres inférieurs ; le malade peut s'habiller seul, marcher et courir, malgré son ankylose ; l'appareil de prothèse qu'il portait est devenu inutile.

Les réflexes patellaires ont reparu à droite. Les pupilles réagissent faiblement à la lumière.

Observation II. — *M. Dr...*, quarante-huit ans. Démence par syphilis cérébrale. L'infection syphilitique remonte à vingt-trois ans. Commotionné de guerre. Crises épileptiformes. Traité par le 606.

1er juillet, réaction de Bordet-Wassermann positive dans le sang et le liquide céphalo-rachidien. Réflexes tendineux exagérés des deux côtés. Réflexes pupillaires paresseux. Myosis. Signe de Romberg. Parésie des membres inférieurs ; démarche des lacunaires. Vertiges et petits ictus fréquents. Affaiblissement global des facultés ; état confusionnel, agitation motrice incohérente ; euphorie.

Début du traitement le 4 juillet 1921 : 0 gr. 15 tous les cinq jours ; 20 piqûres.

Le 8 octobre la série est terminée. Les réflexes restent exagérés, surtout à gauche. Les pupilles réagissent mieux. Les vertiges ont disparu ; la parésie des membres inférieurs est très atténuée. La confusion et l'agitation ont disparu ; le niveau intellectuel s'est relevé sensiblement. Le Bordet-Wassermann reste positif dans le sang. La tension au Pachon est passée de 13/10 à 15/9.

SUR

L'EMPLOI DE L'AMINOPHÉNOLARSINATE DE SOUDE DANS LE TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES

par Augusto NAVARRO MARTIN.

Dans une note préliminaire (1) M. Fourneau a montré l'intérêt qu'il y aurait à entreprendre des recherches méthodiques de chimiothérapie avec des dérivés arsenicaux à arsenic pentavalent (acides arsiniques). Il s'agissait d'établir si les phénomènes toxiques d'ordre nerveux observés par Ehrlich (exclusivement sur les souris) sont l'apanage de ces acides, mais surtout s'ils apparaissent après l'introduction dans l'organisme de doses si voisines des doses thérapeutiques que l'emploi en clinique de pareils dérivés serait dangereux.

Nous avons essayé différents arsenicaux organiques, contenant de l'arsenic à l'état pentavalent, sur les trypanosomiases expérimentales.

Tous ces corps provenaient du Laboratoire de M. Fourneau, à l'Institut Pasteur de Paris, et de celui de M. Madinaveitia, à Madrid.

Les résultats les plus favorables ont été obtenus avec le sel de soude de l'acide 3-amino-4-oxyphényl-arsinique (n° 189 du Laboratoire de M. Fourneau) préparé à l'état très pur par M. Tréfouël.

Parmi les autres produits expérimentés, qui feront le sujet d'une prochaine note, quelques-uns n'ont pas montré d'action sur la marche de l'infection; avec les autres les résultats pratiques sont nuls, car l'action est trop fugace.

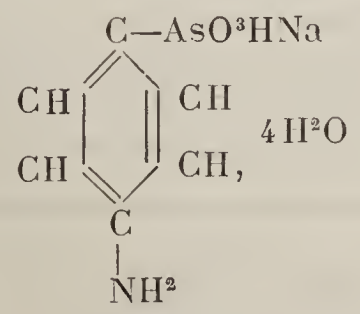
(1) Ces *Annales*, n° 9 septembre 1921, p. 571.

Acide 3-amino-4-oxyphénylarsinique [sel monosodique] (1).

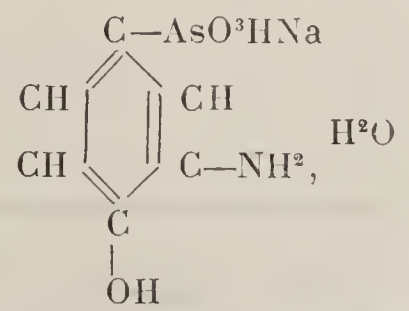
Ce produit fut essayé par Hata dans la fièvre récurrente des souris vis-à-vis de laquelle il se montre aussi actif que le 606 (2), du moins relativement à la dose tolérée. Il fut abandonné parce qu'il produisait des troubles nerveux *sur les souris* traitées (à partir de la dose de 0,025 par 20 grammes de souris) : tremblements cloniques de la tête, chorée et mouvements giratoires (souris danseuses). Dans nos nombreuses expériences aucune dose inférieure à 30 milligrammes (pour des souris de 20 grammes) n'a produit ces phénomènes. Ces symptômes doivent être considérés comme des effets d'intoxication aiguë provoqués par de fortes doses des dérivés arsenicaux à arsenic pentavalent [l'arsacétine, l'acide dichlore-phénol arsinique, l'acide arsenophénylglycine amide (3), etc.], et ils ne peuvent prévaloir contre l'emploi en clinique de ces produits quand la dose curative est très inférieure à la dose tolérée, pas plus qu'on ne saurait rejeter les médicaments usuels sous prétexte qu'ils sont toxiques à très haute dose.

Pour en revenir au 189, la dose *mortelle* pour une souris de 20 grammes est de 45 milligrammes et occasionne la mort cinq ou six jours après l'injection à la suite d'un rapide amaigrissement. La dose de 30 milligrammes est parfaitement tolérée : après une légère perte de poids l'animal se remet et ordinairement augmente de poids. A partir de 35 milligrammes les signes d'intoxication les plus notables sont l'incoordination des mouvements et les mouvements convulsifs de la tête; ces

(1) Ce sel contient 26, 5 p. 100 d'arsenic. Comme on peut s'en rendre compte en examinant les deux formules ci-dessous :



Atoxyl.



Amino-oxy-phénylarsinate de soude.

il diffère de l'atoxyl par la présence d'une fonction phénolique et l'emplacement de la fonction aminée. L'atoxyl contient 24 p. 100 d'arsenic.

(2) Ehrlich et Hata, La Chimiothérapie expérimentale des spirilloses (Traduction Emery). A. Maloine, éditeur, Paris, 1911.

(3) Brown et Pearce. *Journ. Experim. Med.*, 30, p. 437.

symptômes, qui se présentent de vingt-quatre heures à sept jours après l'injection du produit, disparaissent le plus souvent. D'autres fois, la souris devient danseuse, pouvant vivre

TABLEAU I.

Toxicité chez la souris de l'acide 3-amino-4-oxyphénylarsinique.

SOURIS numéro	DOSE INJECTÉE en milligr pour 20 gr.	JOUR de l'injection	OBSERVATIONS
1	10	21 juillet.	15 jours après, augmentation de poids = 3 gr. Vit encore.
2	15	23 —	15 jours après, augmentation de poids = 3 gr. Vit encore.
3	20	29 —	Vit encore. Augmentation de poids = 3 gr.
4	25	25 août.	15 jours après, augmentation de poids de 1 gr. Vit encore.
5	30	25 —	15 jours après, augmentation de poids de 2 gr. Vit encore.
6	35	31 —	1er sept., très inquiète, marche à reculons. — 5 sept., devient danseuse. — 8 sept., amélioration, augmentation de poids de 1 gr. — 10 sept., mieux. — 11 sept., ne danse plus. — 15 sept., normale. Pèse 2 gr. de plus.
7	40	5 sept.	6 sept., choréique, difficulté dans la marche, diarrhée. — 12 sept., devient danseuse. — 15 sept., extraordinairement choréique. Encore danseuse.
8	45	8 —	Difficulté à la marche, danseuse.—10 sept., perte de poids de 3 gr. — 12 sept., ptose des paupières. Impossibilité de marche. Nouvelle perte de poids de 1 gr. — 13 sept., meurt. Autopsie : rate atrophiée, congestion et hémorragie des poumons. Vaisseaux de l'estomac dilatés. Petites hémorragies dans la zone corticale du rein.

longtemps ainsi sans que son état général semble en souffrir. Comme dose maxima tolérée, nous prenons celle à partir de laquelle apparaissent les troubles nerveux, soit 35 milligrammes pour 20 grammes de souris; elle est inférieure à la dose toxique proprement dite.

Avec les solutions de 189 maintenues au contact de l'air pendant trois jours au plus, la chorée débute avec des doses inférieures (25 milligrammes). Ces solutions oxydées sont en même temps plus toxiques que les solutions récemment préparées et d'autant plus que le contact avec l'air est plus prolongé; c'est ainsi que 25 milligrammes suffisent pour tuer une souris en huit ou dix jours. Pour cette raison les solutions du produit doivent être faites au moment de l'injection (1).

J'ai réuni ici, dans le tableau n° 1, les essais de toxicité sur les souris.

Essais curatifs avec le 189 sur les trypanosomiases expérimentales.

I. — Expériences sur le nagana de la souris.

Nous avons fait ces essais avec la race de *Trypanosoma Brucei* que l'on conserve dans les Laboratoires d'Europe et spécialement à l'Institut Pasteur de Paris depuis vingt-cinq ans. Ce virus tue la souris en quatre ou cinq jours.

L'injection du produit a été faite sous la peau du dos et jamais dans un volume supérieur à 1/2 cent. cube. Nous avons injecté généralement le médicament quarante-huit heures après l'inoculation et toujours après avoir constaté la présence de parasites dans la circulation par l'examen microscopique d'une goutte de sang frais. Le tableau n° 2 montre le résultat des expériences :

Ce tableau montre qu'une dose de 4 milligrammes (toujours pour une souris de 20 grammes) est suffisante parfois (2 cas sur 3) pour guérir définitivement de l'infection, mais que la stérilisation n'est sûre qu'à la dose de 7 milligrammes. Dans quelques cas, 2 injections de quantité inférieure à 7 milligrammes ont pu guérir définitivement les souris de leur infection.

Le 189 fait disparaître les trypanosomes de la circulation avec la même vitesse que l'atoxyl, la rapidité d'action étant

(1) Il n'est pas douteux qu'Ehrlich a eu entre les mains un produit déjà altéré, car il note des troubles nerveux à la suite de l'injection de 25 milligrammes (pour une souris de 20 grammes). Il est vrai qu'Hata ne dit pas si la dose injectée est relative à l'acide oxyaminophénylarsinique libre ou à son sel de sodium; il ne spécifie pas non plus ce qu'il entend par dose maxima tolérée.

TABLEAU II.

NOMBRE de souris traitées.	DOSE pour 20 gram.	RÉSULTATS			OBSERVATIONS
		guéries	non guéries	p. 100 de guérisons	
	milligr.				
2	2	»	2	0	Jamais libérée des parasites.
3	3	»	3	0	1 souris libérée de parasites pendant 5 jours.
1	3,5	»	1	0	Libérée de parasites pendant 2 jours.
3	4	2	1	65	
4	5	2	2	50	1 des souris guéries par une nouvelle injection de 6 mgr.
5	6	3	2	60	1 dose nouvelle de 4 mgr. guérit définitivement une des souris non primitivement guérie.
3	7	3	»	100	
1	8	1	»	100	
2	8,5	2	»	100	
1	9	1	»	100	
1	10	1	»	100	
1	15	1	»	100	

naturellement en relation avec le nombre de parasites existant dans le sang et la quantité injectée du médicament; il faut en moyenne de quatre à dix heures pour libérer la circulation des parasites si les doses sont suffisantes.

Les récidives que nous avons observées ne se sont jamais produites après le quatorzième jour (1).

II. — ESSAIS CURATIFS DANS L'INFECTION DES SOURIS AVEC LE *Trypanosoma Rhodesiense*.

La race de *Trypanosoma Rhodesiense*, que nous avons employée pour nos essais, produit chez la souris une infection persistant un temps relativement long. Quelques-unes des souris inoculées ont vécu près d'un mois, et pendant ce laps

(1) Nous considérons comme guérie une souris qui n'a pas de rechute après deux mois.

TABLEAU III.

NUMÉRO des souris	QUANTITÉ de trypanosomes par champ de microscope Obj. 7. Oc. II	DOSE pour 20 gram.	GUÉRISON	RECHUTE au bout de	NOUVELLE injection au	DOSE injectée pour 20 gram.	RÉSULTATS	RÉCIDIVE	NOUVELLE injection au	DOSE	RÉSULTATS	NOTES
		milligr.				milligr.				milligr.		
1	2- 4	3	»	6 jours.	7e jour.	3	Disparition pendant 4 jours.	5e jour.	12e jour.	6	Guérison.	Meurt le 15e jour après la dernière injection; anémique.
2	40-50	3,3	»	A aucun moment libre de parasit.	2e —	5	Guérie.					
3	15-20	4	»	8 jours.	8e —	2	Aucun.	2e —	11e —	6	Meurt le jour suivant.	Sans trypanosomes.
4	2- 3	5	1									
5	10-15	6	»	7 jours.	7e —	6	Disparition des trypanosomes.	12e —	12e —	6	Guérison.	
6	5-10	7	1									
7	40-50	7	1									
8	2- 5	8	1									
9	1- 2	10	1									

de temps les quantités de parasites rencontrés dans le sang d'une même souris ont varié dans de notables proportions.

Les trypanosomes apparaissent dans la circulation quatre ou cinq jours après l'inoculation, et ce fut le moment choisi pour faire l'injection du produit.

J'ai consigné les résultats dans le tableau n° 3.

Comme on le voit, la dose curative pour cette trypanosomiase est la même que pour le nagana : 7 milligrammes pour une souris de 20 grammes. La dose de 3 milligrammes maintient parfois la circulation libre de parasites pendant six jours.

Lorsque les trypanosomes tardent plus de vingt-quatre heures à disparaître, la récidive est la règle ; il en fut ainsi pour les souris n°s 1, 2, 3 et 5.

Dans un cas, 3 doses de 6 milligrammes ont guéri définitivement une souris.

Ni le Trypanosoma Brucei, ni le Rhodensiense ne deviennent résistants au 189 *chez la souris* ; chez le cobaye nagané, au contraire, une seconde injection du produit s'est montrée inactive sur l'infection, créant de cette façon des races résistantes au 189. Cette résistance se conserve après le passage du virus chez la souris (trois mois).

La dose maxima tolérée du 189 chez la souris étant de 35 milligrammes, la dose curative d'emblée étant de 7 milligrammes, le coefficient chimiothérapique pour la trypanosomiase de la souris est donc : C/T = 1/5, coefficient beaucoup plus favorable que celui de l'atoxyl (1/2) et de l'arsenophénylglycine (1/3), produit qui fut considéré par Roehl comme capable de réaliser la *Therapia sterilisans magna*, d'Ehrlich.

Il ne restait, comme pouvant lui être supérieur, tout au moins dans la série de l'arsenic, qu'un produit récemment préparé par Jacob et Heidelberger et étudié par Brown et Miss Pearce, c'est le phénylarsinate de soude glycine amide :

$$C^6H^4 \begin{cases} ASO^3HNa, \quad nH^2O. \\ NH-CH^2.CONH^2. \end{cases}$$

Brown et Pearce donnent pour cette amide un coefficient chimiothérapeutique égal à 1/8 ; or, les résultats obtenus avec ce produit au Laboratoire du professeur Mesnil par Leger et

Tejera (1) sur les trypanosomiases expérimentales à *Trypanosoma Venezuelense et Evansi* sont à peine supérieurs à ceux obtenus avec l'atoxyl. Nous-mêmes avons effectué les essais de l'acide phénylglycine amide arsinique sur le nagana et la trypanosomiase Rhod. de la souris; notre opinion n'est pas si favorable que celle des auteurs américains, ainsi qu'on peut s'en convaincre par les quelques essais suivants :

TRYPANOSOMA RHODENSIENSE		RECHUTE	TRYPANOSOMA BRUCEI		RECHUTE	GUÉRISON
Numéro	Souris de 20 gr.		Numéro	Souris 20 gr.		
1	5 mgr. injectés.	7e jour.	1	5 milligr.	4e jour.	
2	10 —	8e —	2	15 —	5e —	
3	15 —	9e —	3	20 —	0	Guérie.

La dose tolérée de ce produit étant de 50 milligrammes pour une souris de 20 grammes, le coefficient C/T n'est donc ici que de 1/3 approximativement, ce qui correspond bien à ce qu'avaient observé MM. Leger et Tejera ainsi qu'aux dernières expériences de Brown (*Journal of exp. med.*, XXXIII, février).

CONCLUSIONS

L'acide aminophénolarsinique (189) possède un pouvoir trypanocide énergique. Son coefficient thérapeutique C/T (C = dose curative; T = dose tolérée) est supérieur (du moins sur les *Trypanomosa Rhodensiense et Brucei*) à tous les arsenicaux connus. Il peut être évalué à au moins : 1/5.

Il ne provoque des accidents nerveux qu'à des doses cinq à six fois supérieures aux doses curatives.

Sous forme de sel monosodique (à la dilution de 1/6 à 1/13), il peut être injecté sous la peau sans provoquer la moindre douleur et sans déterminer la formation de nécrose, ni d'œdème.

7 octobre 1921.

(Laboratoires de M. le professeur Mesnil et de M. Fourneau).

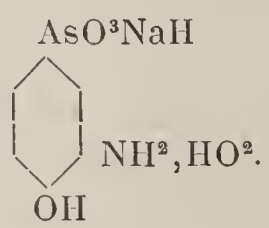
(1) *Bull. Soc. de Path. Exot.*, 13, n° 7.

ACTION THÉRAPEUTIQUE DE L'ACIDE OXYAMINOPHÉNYLARSINIQUE DANS LA SPIRILLOSE DES POULES ET LA SYPHILIS EXPÉRIMENTALE DU LAPIN

par C. LEVADITI et A. NAVARRO-MARTIN.

Nous avons étudié l'action thérapeutique exercée dans la syphilis expérimentale du lapin et la spirillose des poules par l'acide oxyaminophénylarsinique, son sel de soude, son dérivé acétylé et le sel de chaux de ce dernier. Ces composés ont été mis à notre disposition par MM. Fourneau et Tréfouël. M. Fourneau a exposé, dans un mémoire récent (1), des arguments montrant que l'opinion d'Ehrlich et Hata (2), d'après laquelle les acides arsiniques ne sauraient être utilisés sans inconvénient dans la thérapeutique des trypanosomiases et des spirilloses, ne semble pas justifiée. Nos recherches confirment la façon de voir de M. Fourneau, du moins pour ce qui a trait à l'étude expérimentale de ces composés arsenicaux. En voici les détails :

I. — Sel de soude de l'acide oxyaminophénylarsinique (189).



Nous nous sommes servis de ce composé (189), soit en solution aqueuse (injection sous-cutanée), soit en suspension dans l'huile d'olives stérilisée (injection intramusculaire). L'injection de la solution aqueuse sous la peau est parfaitement

(1) Fourneau. Ces *Annales*, 1921, **35**, p. 571.
(2) Ehrlich et Hata. *La chimiothérapie expérimentale des spirilloses*. Berlin, Springer, 1910.

supportée; elle ne produit ni tuméfaction, ni induration, ni nécrose; la résorption est rapide et totale. L'emploi de la suspension huileuse nous a été suggéré par les constatations de Sazerac et Levaditi (1) concernant les tartrobismuthates de sodium et de potassium. L'action thérapeutique profonde et durable de ces sels, administrés sous forme de suspension huileuse, nous a semblé attribuable à la résorption lente de la combinaison bismuthique, retenue sur place par suite de sa faible solubilité et du milieu huileux lui servant d'excipient. Or, il est utile qu'un composé chimique agisse pendant une longue période de temps, dans une infection à allure chronique, comme la syphilis. Les corps qui se résorbent vite paraissent s'éliminer aussi rapidement; l'organisme se laisse traverser par eux sans pouvoir les transformer suffisamment en leurs dérivés parasiticides. On sait [Levaditi et Yamanouchi] (2) que certains principes chimiques spirillicides et trypanocides, en premier lieu l'atoxyl, n'agissent pas tels que, mais seulement après avoir subi dans l'intimité des tissus des transformations aboutissant à des dérivés directement actifs sur les parasites (3).

A. — Spirillose des poules.

La dose tolérée pour la poule (solution aqueuse) est de 0 gr. 4 par kilogramme.

Action préventive. — I. *Poule* nº 8. P. : 2.155 gr. Le 16 avril 1921, injection intraveineuse de 2 cent. cubes d'une solution de 189, à 10 p. 100, soit 0 gr. 1 par kilogramme.

Quatre jours après, infection par injection intramusculair de 0 c.c. 5 de sang riche en *Spirochæta gallinarum*. Apparition des spirochètes dans le sang, le troisième jour; l'animal meurt le sixième jour.

II. *Poule* nº 7. P. : 1.400 gr. Le 20 avril 1921, est infectée avec 0 c.c. 5 sang riche en spirilles. Injection simultanée, sous la peau, de 0 gr. 2 du produit par kilogramme, soit 2 c.c. 8 de la solution à 10 p. 100. *L'animal ne contracte pas l'infection.*

(1) Sazerac et Levaditi. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1921, **173**, p. 338.

(2) Levaditi et Yamanouchi. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1908, **65**, p. 23. — Levaditi. Ces *Annales*, 1909, **23**, p. 604.

(3) Les nouvelles expériences de Levaditi et Navarro montrent que le 189 se comporte, à peu de chose près, comme l'atoxyl, au point de vue de l'action de l'extrait de foie *in vitro*. Les solutions dépourvues de pouvoir trypanocide deviennent fortement actives lorsqu'on les met à 37º, en présence d'extraits hépatiques.

Poule n° 9. P. : 1.520 gr. Le 20 avril 1921, infection et injection simultanées sous la peau de 0 gr. 1 du produit par kilogramme, soit 1 c.c. 6 de la solution à 10 p. 100. *L'animal ne contracte pas l'infection.*

Action curative. — I. *Poule* n° 3, P. : 1.300 gr., est infectée le 20 avril 1921 par injection de 0 c.c. 5 sang contenant des spirilles. Les parasites apparaissent dans la circulation générale le deuxième jour. A ce moment, le poids de l'animal est de 1.240 gr. Traitement par injection intramusculaire de 0 gr. 2 du produit par kilogramme (solution aqueuse à 10 p. 100). Les spirilles disparaissent dès le lendemain. *Guérison définitive.*

II. *Poule* n° 5, P. : 1.720 gr , est infectée le 11 juillet 1921. Les spirilles apparaissent dans le sang le troisième jour. A ce moment, traitement par injection sous-cutanée de 0 gr. 1 de produit par kilogramme. Les spirilles disparaissent dès le lendemain. *Guérison définitive.*

III. *Poule* n° 93, P. : 1.740 gr., est infectée le 11 juillet 1921. Apparition de spirilles dans le sang le troisième jour. A ce moment, traitement par injection sous-cutanée de 0 gr. 05 de produit par kilogramme. Les spirilles disparaissent le lendemain. *Guérison définitive.*

IV. *Poule* n° 60. P. : 1.300 gr. Même disposition de l'expérience. Traitement par *injection sous-cutanée* de 0 gr. 001 de produit par kilogramme. *Aucun effet thérapeutique.*

L'ensemble de ces expériences montre :

1° Que l'injection intramusculaire du 189, à la dose de 0 gr. 1 par kilogramme, faite *quatre jours* avant l'infection, n'exerce aucune action préventive ;

2° Que si le traitement est appliqué simultanément avec l'infection, l'action thérapeutique se manifeste lorsque le 189 est injecté sous la peau à la dose de 0 gr. 1 par kilogramme ;

3° Que le sel de soude de l'acide oxyaminophénylarsinique agit curativement dans la spirillose des poules. La dose minima curative est d'environ 0 gr. 05 *par kilogramme*. Le rapport $\frac{C}{T}$ est de $\frac{1}{8}$.

B. — Syphilis expérimentale du lapin.

La *dose maxima tolérée* par le lapin est de :

0 gr. 4 par kilogramme, en injection *sous-cutanée.*

0 gr. 25 par kilogramme, en injection *intraveineuse.*

1° *189 en solution aqueuse.*

Action curative. — I. *Lapin* n° 12-O, P. : 2.850 gr., porteur de belles lésions vaginales à *virus neurotrope* riches en tréponèmes. Le 26 avril 1921, traité par injection de 189 en solution aqueuse, à raison de 0 gr. 175 par kilogramme (injection sous-cutanée). Le 27, la lésion apparaît plus desséchée; elle ne

contient plus de tréponèmes. Pas de perte de poids dans la suite. *Guérison définitive* dès le troisième jour.

II. *Lapin* 64-B, P. : 2.570 gr., porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes neurotropes. Traitement le 4 juillet 1921, par injection sous-cutanée de 189, en solution aqueuse, à raison de 0 gr. 05 par kilogramme. Le 5, disparition des spirochètes ; les lésions se détergent. Elles guérissent le 6 (deuxième jour). Aucune perte de poids. Le 26 juillet 1921, soit le *vingt-deuxième jour, récidive, avec apparition de lésions et présence de tréponèmes.* Ce lapin est traité à nouveau par le même corps (voir expérience ci-dessous).

III. *Lapin* 91-Ac, P. : 2.760 gr. et le *lapin* 64-B de l'expérience précédente, tous deux porteurs de belles lésions préputiales riches en tréponèmes, sont traités le 13 novembre 1921 par le 189, en injection sous-cutanée, à raison de 0 gr. 2 par kilogramme. Le lapin 64-B *a été soumis au second traitement* 109 *jours après la récidive.* Disparition des spirochètes dès le lendemain ; *guérison totale et définitive* le troisième jour.

2° *189 en suspension huileuse.*

Suspension huileuse du sel de soude de l'acide oxyaminophénylarsinique, à 10 p. 100. Cette suspension, facilement injectable, permet la conservation du corps à l'air pendant un temps plus long que si le sel est en solution aqueuse (plusieurs jours). Nous l'avons employé en injection intramusculaire.

I. *Lapin* 4-E, P. : 2.850 gr., porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes. Traitement intramusculaire le 21 octobre 1921. Injection de 0 gr. 1 de sel par kilogramme. *Disparition des spirochètes dès le lendemain et guérison le troisième jour.*

II. *Lapin* 2-E, P. : 2.570 gr., mêmes lésions très riches en spirochètes. Injection intramusculaire de 0 gr. 05 de sel par kilogramme. *Aucun effet thérapeutique.*

Ces recherches montrent que le *sel de soude de l'acide oxyaminophénylarsinique* (189) *exerce une action thérapeutique manifeste et prompte dans la syphilis expérimentale du lapin.* Cette action est apparente, si le sel est administré à la dose de 0 gr. 17 par kilogramme, en solution aqueuse (injection sous-cutanée), et 0 gr. 1 par kilogramme en suspension huileuse (injection intramusculaire). Une dose inférieure à 0 gr. 17, soit 0 gr. 05, ne produit qu'une guérison passagère, suivie de récidive. *La variété spirochétienne, qui engendre la rechute, n'est pas arséno-résistante* ; en effet, une nouvelle injection de 189, faite près de trois mois après la récidive, a déterminé la cicatrisation rapide et définitive des lésions. Le

rapport $\frac{C}{T} = \frac{1}{4}$, si on s'adresse tout au moins aux suspensions huileuses.

II. — Acide oxyaminophénylarsinique.

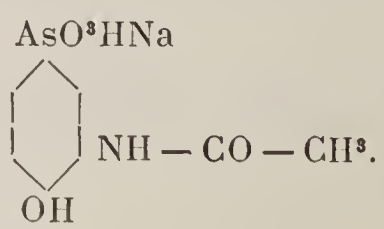
L'insolubilité de cet acide nous a obligé de l'administrer en suspension huileuse et en injection intramusculaire.

Lapin 28-B, P. : 2.370 gr., porteur de lésions préputiales riches en tréponèmes (virus neurotrope). Le 11 novembre 1921, injection intramusculaire de 0 gr. 1 du produit par kilogramme. Les spirochètes disparaissent dès le lendemain et la lésion guérit dès les premiers jours. Aucune récidive jusqu'à présent. Le poids de l'animal augmente sensiblement.

Cette expérience montre que *non seulement le sel de soude de l'acide oxyaminophénylarsinique, mais aussi l'acide lui-même, exerce une action curative manifeste dans la syphilis expérimentale du lapin, à la dose de* 0 *gr.* 1 *par kilogramme.*

III. — Dérivé acétylé de l'acide oxyaminophénylarsinique (sel de soude) (190).

Ce composé dont voici la formule :



est parfaitement soluble dans l'eau. Nous l'avons employé en injection sous-cutanée (solution à 10 p. 100).

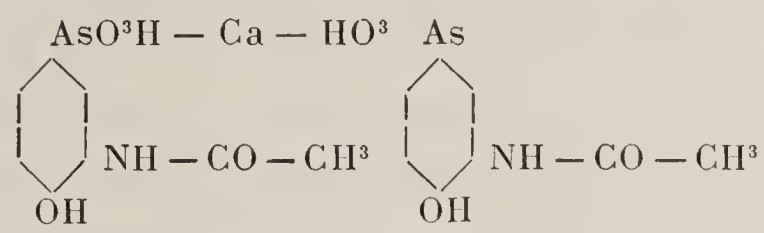
I. *Lapin* 4-B, P. : 2.620 gr., porteur de lésions peu développées du prépuce, riches en spirochètes. Le 15 octobre 1921, traitement sous-cutané par le sel soluble, à la dose de 0 gr. 2 par kilogramme. Disparition des tréponèmes dès le lendemain et guérison rapide de la lésion. Absence de récidive. Augmentation de poids (2.920 gr. le 26 octobre 1921).

II. *Lapin* 94-B, P. : 2.630 gr., lésions préputiales plus marquées, très riches en parasites. Traitement le 19 octobre 1921, à raison de 0 gr. 1 par kilogramme (sous la peau). Les tréponèmes disparaissent le 20, mais réapparaissent le 21. La lésion ne se modifie pas dans son aspect.

III et IV. *Lapins* 71-C et 14-E, traités avec 0 gr. 05 et 0 gr. 01 par kilogramme, n'ont montré que des disparitions temporaires des parasites. Aucune amélioration dans l'état des manifestations locales.

Il résulte de ces expériences que le dérivé acétylé de l'acide oxyaminophénylarsinique agit efficacement dans la syphilis expérimentale du lapin, mais à des doses légèrement supérieures à celles qui déterminent la guérison des lésions avec le 189 ; *son action thérapeutique est légèrement inférieure à celle de ce dernier composé.*

Nous avons également essayé *le sel de chaux* de ce dérivé acétylé dont voici la formule :



Nous l'avons employé, comme l'acide du 189, à l'état de suspension huileuse. Il ne paraît pas agir efficacement, ainsi qu'il résulte de l'expérience suivante :

Lapin 1-B, P. : 2.850 gr., porteur de grosses lésions préputiales, riches en spirochètes. Le 11 novembre 1921, traitement par injection intramusculaire, à raison de 0 gr. 1 par kilogramme. *Aucun changement dans l'aspect des lésions.* Les spirochètes ne disparaissent que temporairement.

Conclusions.

On peut conclure de l'ensemble de ces recherches que l'acide oxyaminophénylarsinique, son sel de soude et son dérivé acétylé, jouissent de propriétés curatives promptes et définitives dans la syphilis expérimentale du lapin. Le 189 prévient et guérit également la spirillose des poules. La dose curative est cependant, pour ces produits, sensiblement supérieure à celle de dioxydiamidoarsénobenzène. Il faut au moins 0 gr. 1 à 0 gr. 2 de sel par kilogramme d'animal pour déterminer la guérison définitive des lésions et empêcher la récidive. Pour la syphilis, le rapport $\frac{C}{T}$ est de $\frac{1}{4}$, tandis qu'il est de $\frac{1}{8}$ pour le « 606 ». Il est possible que cette moindre efficacité de la série étudiée par nous tient à l'élimination plus rapide des composés actifs par l'organisme. L'inconvénient est toutefois amplement compensé par l'avantage que présentent certains de ces corps,

en particulier le 189, de pouvoir être facilement injectés sous la peau et d'agir promptement.

Peut-être que l'injection intramusculaire de ces composés, sous forme de suspension huileuse, retardant l'élimination, augmentera l'effet curatif profond. Nos expériences permettent de l'espérer. Ce qui est certain, c'est que la toxicité de ces sels est des plus faibles. A des doses tolérées, ils ne déterminent aucune perte de poids; les animaux se portent parfaitement bien et engraissent. Quant aux suspensions huileuses, elles sont aussi bien supportées chez l'animal que les injections de solutions aqueuses faites sous la peau; elles n'engendrent ni tuméfaction, ni indurations appréciables.

PREMIERS RÉSULTATS DU TRAITEMENT DE LA SYPHILIS PAR L'ACIDE OXYAMINOPHÉNYLARSINIQUE (SEL DE SOUDE) OU " 189 "

Par L. FOURNIER, L. GUÉNOT et A. SCHWARTZ.

Nous avons employé sur cinquante syphilitiques le corps arsenical dont M. Fourneau nous a confié l'étude thérapeutique. Trente de ces malades présentaient des chancres ou des accidents secondaires. Chez les autres, la syphilis était plus ou moins ancienne et il n'existait pas d'accidents récents; la plupart supportaient très mal les autres traitements, arsenicaux ou mercuriels, et le 189 constitua pour eux un excellent « traitement d'entretien » parfaitement bien toléré et agissant d'une façon très satisfaisante sur la santé générale.

Nous avons utilisé le 189, dissous dans quelques centimètres cubes d'eau distillée, en injections sous-cutanées ou intramusculaires faites par séries de dix à douze, à deux ou trois jours d'intervalle et à des doses allant de 0 gr. 60 à 1 gr. 50 et même, chez quelques malades, 1 gr. 80 par injection. La dose totale a varié de 6 à 20 grammes pour une série.

Dans la très grande majorité des cas, les injections ont été parfaitement bien supportées et n'ont déterminé ni réaction locale, ni réaction générale. Très rarement cependant le soir même de l'injection s'est produite une poussée fébrile assez intense (40°), avec frissons, courbature générale, céphalalgie, ces phénomènes accompagnant alors assez souvent une réaction d'Herxheimer du côté des lésions syphilitiques.

Ces accidents généraux ont toujours été de courte durée et, somme toute, très bénins. La dose de 189 qui les a déterminés était assez variable; telle injection de 0 gr. 90 a été suivie d'une poussée fébrile intense, alors que des injections

de 1 gr. 80 ne déterminaient, chez d'autres malades, aucune espèce de réaction.

Quelques malades ont, en outre, accusé de la douleur au niveau de l'injection, dès que la dose injectée atteignait ou dépassait 0 gr. 60. Nous avons même trois ou quatre fois observé une réaction locale violente, avec tuméfaction rouge, chaude et douloureuse; mais la durée de ces accidents locaux a été brève et leur résolution complète, sans jamais formation d'abcès.

L'action thérapeutique du 189 doit être envisagée au triple point de vue de ses effets :

1° sur les lésions syphilitiques;

2° sur l'évolution générale de la syphilis et la réaction de fixation;

3° sur l'état général des malades.

I. — Action sur les lésions syphilitiques.

Dans la plupart des cas, le 189 exerce sur le chancre et les accidents secondaires une action remarquablement rapide, comparable aux plus beaux effets des injections intraveineuses d'arsénobenzol ou de novarsénobenzol. En quelques jours s'assèchent et se cicatrisent toutes les lésions, les tréponèmes disparaissent après la première ou la deuxième injection. Chez un malade atteint de syphilis grave, présentant une éruption généralisée très abondante de syphilides varicelliformes et varioliformes, des plaques muqueuses bucco-pharyngées, ombilicales, génitales, anales, de la fièvre (39°), une céphalée intense, de l'albuminurie (plus de 1 gramme), nous avons vu tous ces accidents disparaître après quelques injections. Dès la deuxième, il n'y avait plus ni fièvre ni céphalée, le taux de l'albumine s'était abaissé à 0 gr. 15 et celle-ci disparut complètement les jours suivants.

A l'opposé de faits si remarquables, il en est d'autres, rares il est vrai, où l'action du 189, même à doses élevées, se montre assez médiocre : après plusieurs injections, les tréponèmes restent abondants au niveau des lésions qui ne se modifient que très lentement. Dans un cas (obs. Guil...), après 3 gr. 90 en 3 injections, les chancres s'agrandissaient; on dut associer le bismuth à l'arsenic.

II. — Action sur l'évolution de la syphilis et sur la réaction de fixation.

L'évolution de la syphilis a été, cliniquement, enrayée chez le plus grand nombre de nos malades, après la première ou après la deuxième série d'injections de 189. Les chancres n'ont pas été suivis d'accidents secondaires et ceux-ci, quand ils existaient, n'ont pas récidivé.

Mais, par contre, nous avons observé dans 3 cas, quelques jours après la cessation du traitement, la réapparition de plaques muqueuses riches en tréponèmes; une fois même les accidents se reproduisirent au cours du traitement.

La réaction de Bordet-Wassermann n'a été, chez la plupart de nos malades, qu'insuffisamment modifiée par une première série d'injections de 189, lorsque du moins elle était franchement positive avant le traitement. Elle s'est plus ou moins notablement atténuée ou même est devenue franchement négative après la deuxième série d'injections, pratiquée ordinairement un mois après la première.

La réaction est restée négative dans 2 cas de chancre au début, dans lesquels elle n'était pas encore positive au moment du traitement.

III. — Action sur l'état général.

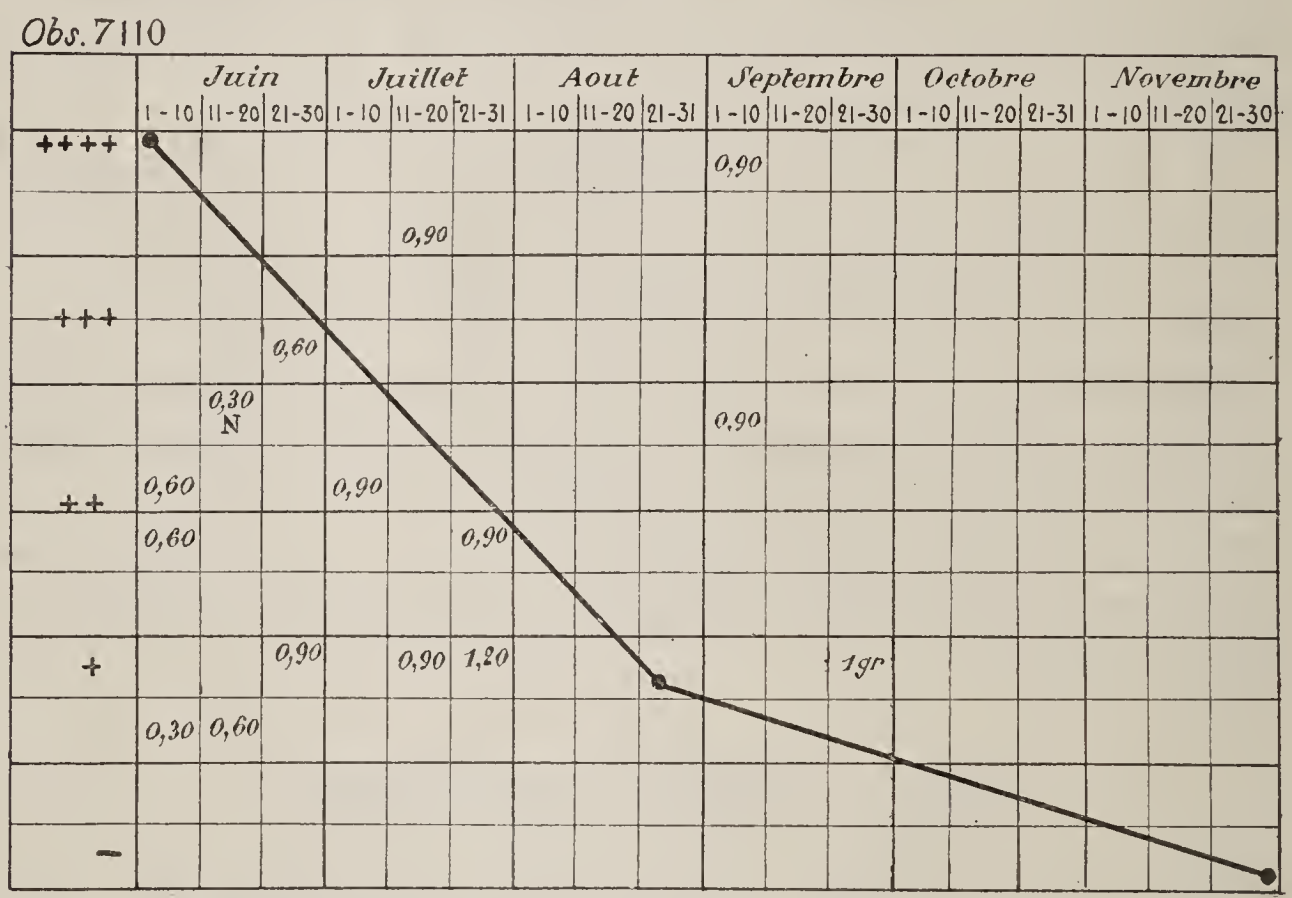
Les effets de l'acide oxyaminophénylarsinique sur l'état général des malades ont été des plus satisfaisants; ces effets furent surtout évidents et rapides chez quelques syphilitiques amaigris, anémiés, asthéniques; chez eux, en quelques jours, disparurent la pâleur, la lassitude; l'appétit devint vif, les forces renaissaient à vue d'œil. Tous nos malades, d'ailleurs, augmentèrent de poids, quelques-uns de 3 à 4 kilogrammes en un mois.

Cette amélioration de l'état général fut particulièrement remarquable chez un tuberculeux apyrétique, dont les crachats contenaient de nombreux bacilles; tandis qu'il augmentait de plus de 3 kilogrammes et que son aspect général devenait excellent, les signes stéthoscopiques s'amélioraient sensiblement au niveau du sommet pulmonaire atteint; l'expectoration dimi-

nuait et, à la fin du traitement, on ne trouvait plus de bacilles dans les crachats. Il est à remarquer que, chez ce malade, le 189 donna les résultats les meilleurs au point de vue de la syphilis, puisque, après une guérison rapide du chancre et des lésions papuleuses, la réaction devint franchement négative (obs. Aud...).

Observations.

Le bref résumé de quelques-unes de nos observations permettra d'apprécier rapidement les premiers résultats que nous



Courbe 1.

a donnés le traitement de la syphilis par l'oxyaminophényl-arsinate de soude.

Pig..., 45 ans, 3 juin. Chancre syphilitique de la rainure. Petit chancre de la langue. Tréponèmes constatés. Wassermann + +.

Traitement. — 8 gr. 70 de 189 en 12 injections du 4 juin au 27 juillet 2 gr. 80 en septembre.

Résultats. — Cicatrisation des chancres en une semaine. Aucun accident par la suite.

Wassermann : faiblement positif le 29 août; négatif le 30 novembre (courbe 1).

Aud..., 27 ans, 1er juillet. Grand chancre du sillon balano-préputial. Début : deux mois. Adénite bi-inguinale. Roséole, papules disséminées. Alopécie.

Adénopathie mastoïdienne. Tréponèmes. Wassermann : ++++. Tuberculose pulmonaire ancienne, infiltration sommet droit ; très nombreux bacilles dans les crachats.

Traitement. — Du 1er juillet au 29 juillet : 6 grammes de 189 en 11 injections. Réaction fébrile (38°5) après la première injection.

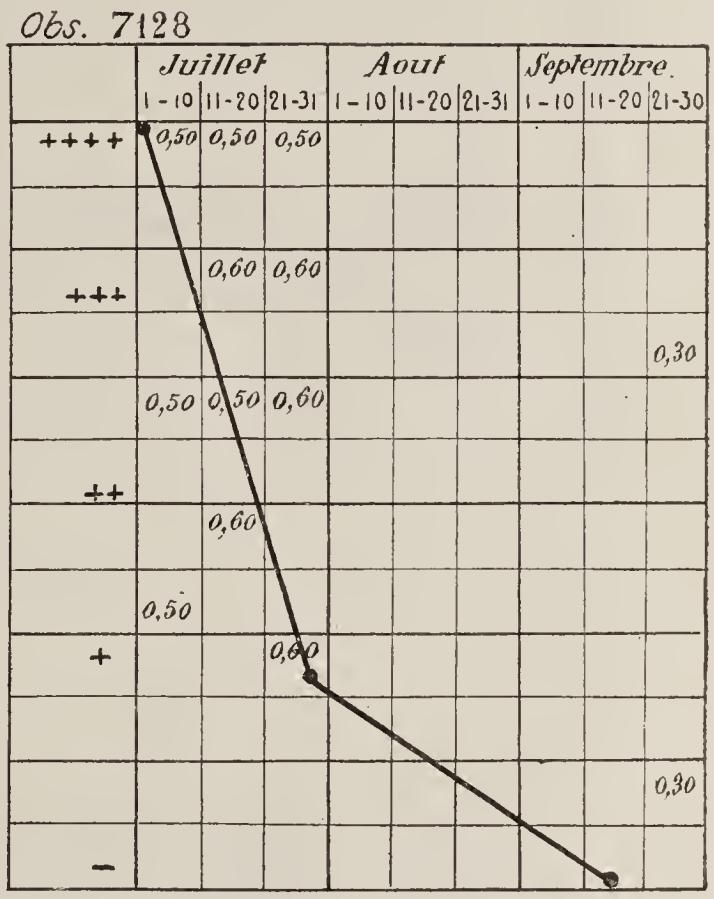
Résultats. — La roséole, devenue d'un rose très vif après la première injection, disparaît deux ou trois jours plus tard, ainsi que les éléments papuleux. Le chancre est cicatrisé le 15 juillet. L'adénopathie a presque disparu. Amélioration considérable de l'état général. Augmentation de poids : 3 kilogrammes. Diminution marquée de la toux; presque plus de râles au sommet droit. Pas de bacilles dans l'expectoration.

Wassermann : + le 1er août; — le 13 septembre et en *décembre* (courbe 2).

Daj..., 27 ans, 29 juin. Chancre du frein, il y a quatre mois, traité par 5 injections de néosalvarsan (traitement interrompu à cause de crises nitritoïdes). Depuis un mois, plaques muqueuses génitales, phimosis, plaques buccales, alopécie, adénopathie. Wassermann : ++++.

Traitement. — Du 29 juin au 19 juillet : 9 gr. 60 de 189 en 10 injections.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la deuxième injection. Les plaques sont cicatrisées le 10 juillet. Wassermann : atténué (+). Etat général excellent.



Courbe 2.

Le 6 août, le malade revient à l'hôpital : plaques muqueuses préputiales, tréponèmes. *Donc rechute rapide.* Le malade est soumis au traitement bismuthé.

Kar..., 18 ans, 29 juin. Chancre syphilitique du fourreau. Adénopathie bi-inguinale. Début : quinze jours. Tréponèmes. Wassermann : ++.

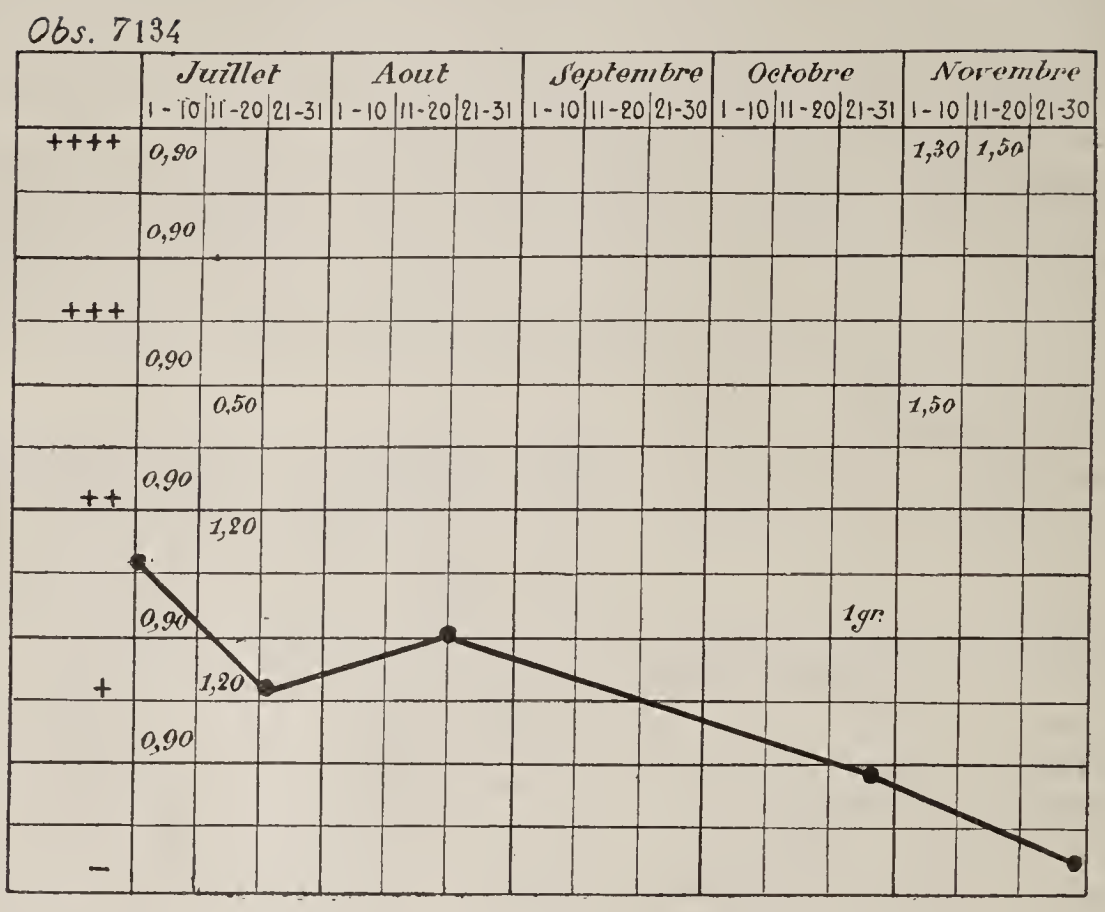
Traitement. — 8 gr. 30 de 189 en 9 injections du 29 juin au 19 juillet; 5 gr. 30 du 30 octobre au 10 novembre.

Résultats. — Chancre cicatrisé le 6 juillet. Par la suite aucun autre accident.

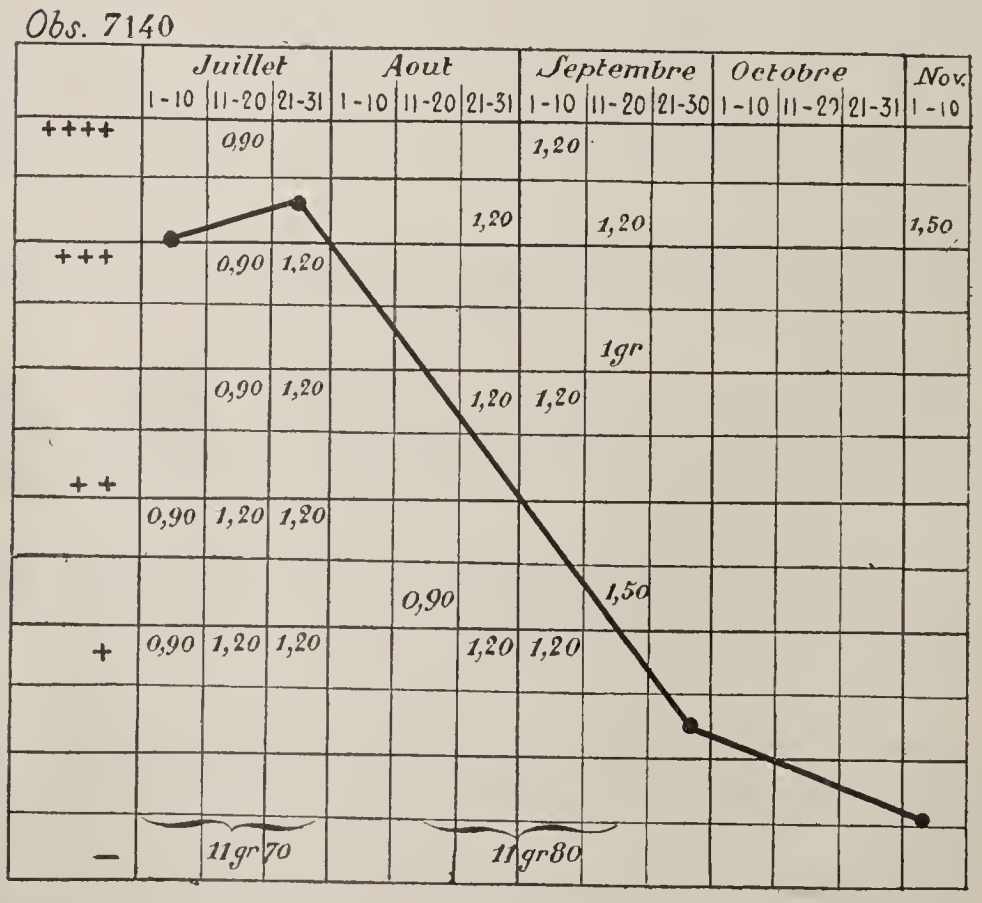
Wassermann : + le 20 juillet : ++ le 20 août; + le 28 octobre; — le 30 novembre (courbe 3).

Lin..., 23 ans, 5 juillet. Chancre de la rainure. Début : deux mois. Adénopathie bi-inguinale. Roséole, quelques papules disséminées. Tréponèmes : Wassermann : ++++.

Traitement. — 11 gr. 70 de 189 en 11 injections, du 7 juillet au 29 juillet ; 11 gr. 80 de 189 en 10 injections du 18 août au 18 septembre. Réaction forte après la première injection (40°2), mais très brève.



Courbe 3.



Courbe 4.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la deuxième injection. Cicatrisation lente du chancre, disparition de tous les accidents en 25 jours.

Wassermann : + + + + après la première série ; + le 27 septembre ; — le 2 novembre (courbe 4).

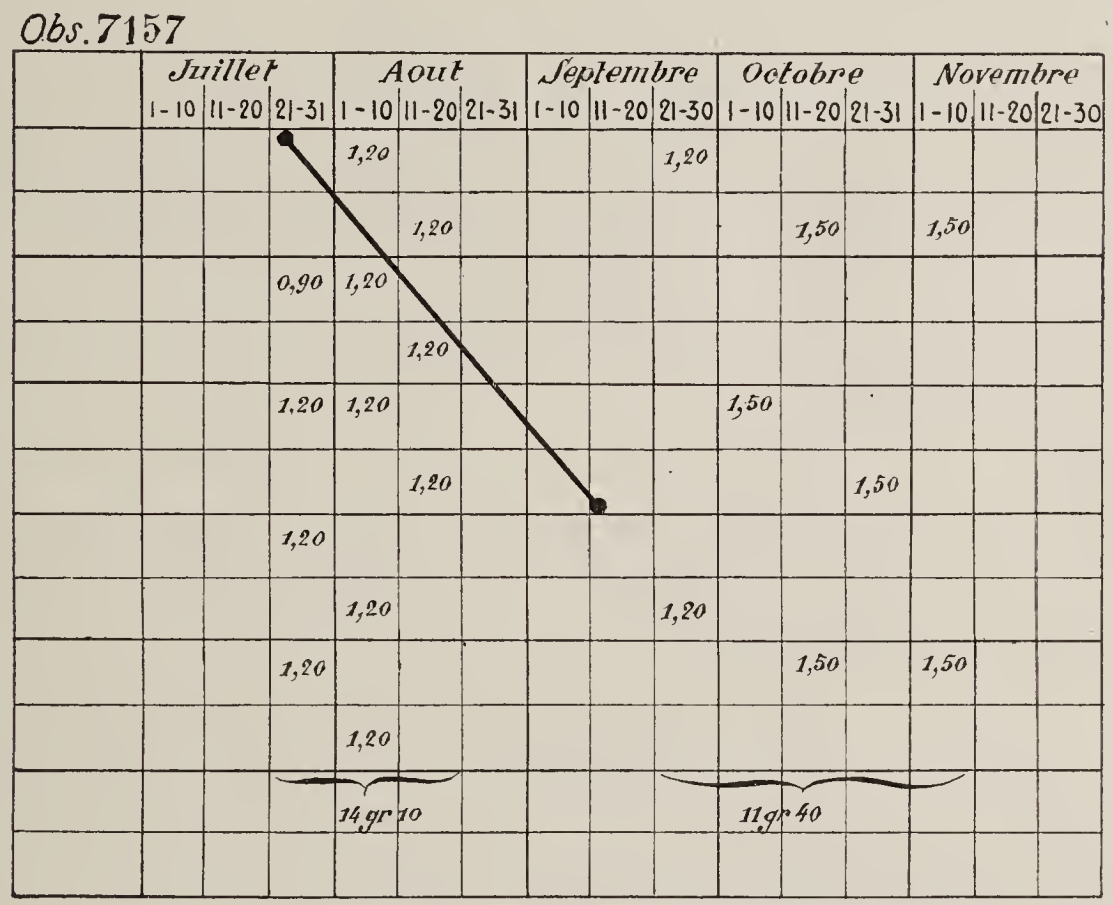
Bau..., 44 ans, 18 juillet. Chancre de la rainure : huit jours. Tréponèmes. Wassermann : —.

Traitement. — 12 grammes de 189 en 10 injections de 1 gr. 20 du 19 juillet au 7 août.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la première injection. Chancre cicatrisé le 27 juillet. Depuis, aucun accident.

Wassermann : négatif le 23 octobre.

Mau..., 38 ans, 24 juin. Plaques muqueuses génitales, buccales, anales.



Courbe 5.

Chancre cicatrisé. Début : trois à quatre mois. Tréponèmes. Wassermann : + + + +.

Traitement. — 10 gr. 30 en 10 injections du 4 juillet au 28 juillet (traitement insuffisant).

Résultats. — Les accidents disparaissent après la cinquième injection. Wassermann : + + +

7 août. Le malade revient avec des plaques muqueuses génitales. Tréponèmes. On injecte 1 gr. 20 de 189 le 7 août et 1 gr. 50 le 11 août.

Le 18 les plaques se sont multipliées ; nombreux tréponèmes.

Donc récidive rapide et continuation des accidents malgré la reprise du traitement.

Casta..., 52 ans, 23 juillet. Syphilis il y a deux ans. Plaques muqueuses génitales en nappes, plaques anales. Iritis gauche. Mauvais état général : Wassermann : + + + +.

Traitement. — Du 23 juillet au 16 août, 14 gr. 10 de 189 en 12 injections; 11 gr. 40 de 189 du 21 septembre au 9 novembre.

Résultats. — Iritis très amélioré dès la troisième injection. Guérison complète le 5 août. Par la suite pas de récidive.

Wassermann : + + le 18 septembre (courbe 5).

Graz..., 28 ans, 5 août. Chancre du méat. Début : quatre semaines. Tréponèmes.

Traitement. — Du 5 août au 28 août, 15 gr. 80 de 189 en 12 injections; du 9 octobre au 9 novembre : 10 gr. 50 de 189 en 7 injections.

Résultats. — Disparition des tréponèmes après la première injection de 1 gr. 20. Chancre cicatrisé le 15 août. Pas d'accidents secondaires.

Wassermann : + + + + le 28 août; + + le 2 octobre; — (légèrement suspect) le 6 novembre.

Gui..., 30 ans, 29 juillet. Grand chancre du limbe et petit chancre voisin. Début : Quinze jours. Tréponèmes. Wassermann : + + + +.

Traitement. — 30 juillet, 1 gr. 20 de 189; 3 août, 1 gr. 20. Tréponèmes. 5 août, 1 gr. 50; tréponèmes, les chancres grandissent. On associe le bismuth le 6 août : 0 gr. 20 bismuth; 8 août : 1 gr. 50 de 189. Tréponèmes. 9 août : 0 gr. 20 bismuth. Tréponèmes. 10 août : 1 gr. 50 de 189. Tréponèmes. 11 août : 0 gr. 20 bismuth. Disparition des tréponèmes.

Depuis le 11 août jusqu'au 27 août, 7 injections de 1 gr. 50 de 189 et 6 injections 0 gr. 20 de bismuth.

Résultats. — Chancres cicatrisés le 17 août. Pas d'accidents cutanés ni muqueux.

Liquide céphalo-rachidien : Wassermann : + le 27 août; sang : + + le 28 août.

Nouvelle série de 189 : 10 gr. 50 en 7 injections du 11 septembre au 6 octobre.

31 octobre : Wassermann : —.

Spet..., 26 ans, 9 août. Enorme chancre de la lèvre inférieure. Début : deux mois. Eruption papuleuse généralisée, syphilides palmaires et plantaires; plaques muqueuses génitales. Mauvais état général. Tréponèmes.

Traitement. — Du 10 août au 3 septembre, 17 gr. 30 de 189 en douze injections. Traitement très bien supporté, malgré les fortes doses employées (1 gr. 20 à 1 gr. 80); du 3 octobre au 13 novembre, 10 gr. 50 de 189 en 7 injections.

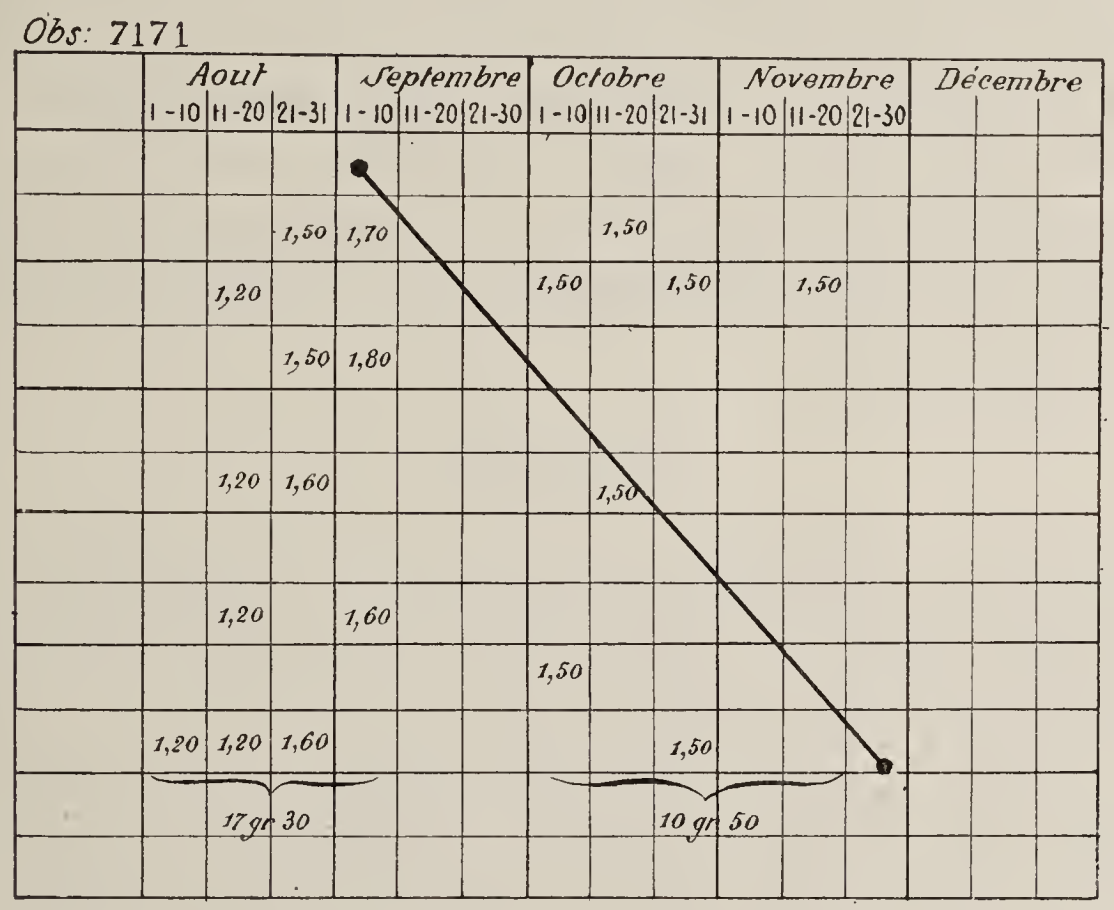
Résultats. — Cicatrisation de tous les accidents le 26 août : l'adénopathie s'atténue progressivement et disparaît le 16 octobre.

Wassermann : + + + + le 5 septembre (après la 1re série : 17 gr. 30 de 189); + le 30 novembre (courbe 6).

Les faits que nous avons observés sont encore trop récents et trop peu nombreux pour que nous puissions porter un jugement définitif sur la valeur réelle de l'acide oxyaminophénylarsinique dans la syphilis ; ils montrent néanmoins que ce composé est un agent antisyphilitique puissant.

D'une façon générale, son action nous a paru moins profonde et surtout moins constante que celle de l'arsénobenzol et du

novarsénobenzol. Plus fréquemment qu'après l'emploi de ces derniers composés se produisent des récidives. Plus lentement aussi s'atténue la réaction de fixation ; celle-ci n'est souvent que médiocrement modifiée par une première série de fortes injections et une dose totale de 15 à 20 grammes de 189. Il est nécessaire, pour obtenir des résultats appréciables et dura-



Courbe 6.

bles, de recommencer un deuxième traitement un mois à peine après le premier.

Mais l'acide oxyaminophénylarsinique possède par contre de précieux avantages, au premier rang desquels se place sa faible toxicité. Certes, il est nécessaire d'employer des doses élevées de ce composé arsenical, mais des injections de 1 gr. 20, 1 gr. 50, 1 gr. 80, sont supportées le plus souvent sans aucun inconvénient notable, même par des malades chez lesquels le novarsénobenzol déterminait des réactions violentes. Conditions éminemment favorables à l'application d'un « traitement ambulatoire », nos malades n'étaient point obligés à garder la position étendue après les injections, et jamais nous n'avons observé chez eux de troubles digestifs, bien qu'aucun compte ne fût tenu des heures des repas.

La tolérance ordinairement parfaite du 189, comme aussi la facilité de son maniement et son emploi en injections sous-cutanées ou intramusculaires, le feront, dans de multiples circonstances, préférer à toute autre médication antisyphilitique.

Ajoutons qu'en raison de sa rapide action sur les lésions superficielles de la syphilis, il pourra aussi être utilisé comme « médicament d'attaque », le traitement étant ensuite continué par l'administration d'un autre agent antisyphilitique, le bismuth par exemple, comme nous l'avons fait chez plusieurs de nos malades. Nous n'avons pas encore toutefois de données précises sur la valeur thérapeutique de ce mode de traitement mixte.

Conclusions.

L'acide oxyaminophénylarsinique est un antisyphilitique énergique faisant rapidement disparaître les lésions primaires et secondaires. Dans quelques cas rares des récidives se produisent après la première série d'injections.

Son action sur la réaction de fixation est lente et ne se montre ordinairement qu'après la deuxième série d'injections ; la réaction est alors souvent très atténuée ou même négative.

Son action sur l'état général est remarquable, et paraît devoir faire employer ce composé dans tous les états pathologiques où l'arsenic trouve ses indications ordinaires.

L'acide oxyaminophénylarsinique n'a déterminé chez nos malades aucun accident général ou local important.

La commodité de son emploi et sa faible toxicité recommandent son utilisation dans tous les cas où les autres préparations arsenicales (arsénobenzol et novarsénobenzol) sont difficilement applicables ou mal supportées, particulièrement chez les malades affaiblis, cachectiques ou atteints de tares viscérales graves, auxquels il faut le plus possible éviter les risques d'une réaction un peu intense.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE
DE L'ENCÉPHALITE DITE « LÉTHARGIQUE »

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

par C. LEVADITI, P. HARVIER et S. NICOLAU.

Depuis la publication de notre premier mémoire (1), nous avons enregistré un certain nombre de faits expérimentaux nouveaux, qui ont été résumés dans une série de Notes présentées à la *Société de Biologie* (2) et que nous désirons exposer en détail dans le présent travail.

Nous envisagerons successivement : *les sources des virus*, *la période d'incubation*, *les symptômes* et *l'évolution de la maladie expérimentale*, *l'histologie pathologique*, les *diverses propriétés du virus encéphalitique*, *les voies de pénétration*, *la virulence des humeurs et des organes*, *le mode de propagation de l'infection*, *la question des porteurs de germes*, *l'immunité*, *les rapports entre le virus encéphalitique et les autres virus similaires* (*rage*, *poliomyélite*, *vaccine*), les *affinités dermotropes* et *neurotropes* du germe de la maladie de v. Economo.

I. — Source des virus et animaux réceptifs.

1° Source des virus. — La plupart de ces recherches nouvelles ont été réalisées avec le virus qui nous avait servi dans nos premières expériences. Nous rappellerons que ce virus provenait du cerveau d'une malade morte d'encéphalite léthargique dans le service du professeur Carnot (Obs. IV du premier Mémoire) et avait été entretenu par de nombreux passages intracérébraux sur le lapin. Nous désignerons ce virus d'origine cérébrale sous le nom de *virus C*.

(1) Levaditi et Harvier. Ces *Annales*, **34**, p. 911, décembre 1920.
(2) Levaditi, Harvier et Nicolau. *C. R. de la Soc. de Biologie*, **84**, p. 300, 388, 524, 817, 957 ; **85**, p. 195, 213, 287, 345.

Depuis plusieurs mois, nous avons réussi à rendre *fixe* une nouvelle souche de virus encéphalitique, de provenance, non pas cérébrale, mais *naso-pharyngée*.

Observation résumée. — *Ch...*, vingt ans, femme de chambre, vient consulter à l'hôpital Beaujon le 9 mars 1921; elle ressent depuis huit jours des douleurs au niveau de la face. On constate à l'examen une paralysie faciale droite, de type périphérique, avec signe de Ch. Bell, qui s'accusera les jours suivants. Diminution de l'acuité auditive du même côté. En même temps céphalée frontale, vertiges, signe de Romberg, station debout impossible. Examen auriculaire : négatif (Dr Baldenweck). Ponction lombaire : albumine 0,20; cellule de Nageotte 0,7 éléments par millimètre cube; glucose 0,70; réaction de Wassermann : négative avec le sang et le liquide céphalo-rachidien. Le 20 mars, apparition d'une paralysie du voile du palais du côté droit; demi-voile droit immobile attiré vers la ligne médiane. Disparition progressive des symptômes de paralysie faciale et vélo-palatine. Guérison totale au bout d'un mois.

Le 10 mars 1921, nous plaçons dans la narine droite de la malade un tampon imbibé d'eau glycérinée. Le tampon est retiré vingt-quatre heures après. Il sert à badigeonner la cornée, préalablement scarifiée (1), du *lapin* 81-*B*. Nouveau badigeonnage, le lendemain, avec le même tampon conservé dans la glycérine.

Le 12 mars, on constate un début de kératite et de la conjonctivite. Cette kératite devient très intense les jours suivants. Cependant l'animal guérit. Deux passages sont pratiqués, avec des produits prélevés sur la cornée du *lapin* 81-*B*, l'un le *sixième jour*, sur la cornée du *lapin* 15-*B*; l'autre le *douzième jour* sur la cornée du *lapin* 12-*M*. Le premier animal présente une kératite et survit; le second, atteint d'une kérato-conjonctivite intense, est malade le vingt-septième jour. Il tourne la tête du côté de l'œil infecté, présente des secousses myocloniques, devient somnolent et meurt le 20 avril. Son cerveau, à l'examen duquel on constate des lésions intenses et caractéristiques d'encéphalite, sert à pratiquer, tant par la voie cérébrale que par la voie cornéenne, une série de passages, qui ont été continués sans interruption pendant plusieurs mois.

Cette expérience montre que, conformément aux constatations de Strauss, Hirshfeld et Loewe (2), *le virus de la maladie peut-être décelé dans les sécrétions naso-pharyngées des sujets atteints d'encéphalite*. Nos recherches ultérieures nous ont prouvé qu'il y avait identité absolue entre ce virus d'origine nasale et le virus d'origine cérébrale.

Notre procédé de l'inoculation sur la cornée permet donc de déceler le virus dans les sécrétions naso-pharyngées; il offre, sur

(1) Le procédé opératoire pour obtenir la kératite encéphalitique et les caractères de celle-ci sont exposés plus loin.

(2) Strauss, Hirshfeld et Loewe. *New York med. Journ.*, 3 mars 1919, p. 772. *Journ. of infect. Diseases*, novembre 1919, p. 370.

la méthode généralement employée, l'avantage d'éviter la filtration des produits soumis à l'examen.

Il est intéressant de faire remarquer que dans cette expérience, faite avec du virus de souche nasale, l'animal inoculé par scarification cornéenne, ainsi que celui du premier passage, pratiqué le sixième jour, n'ont pas contracté la maladie. Le lapin du second passage, fait le douzième jour, est mort longtemps après et nous a servi pour obtenir un virus fixe. Ce fait est à rapprocher de nos premiers essais sur le virus cérébral *C* : des deux lapins injectés par voie intracranienne avec l'émulsion de cerveau humain, un seul contracta l'encéphalite, l'autre resta indemne et se montra même sensible à une *inoculation ultérieure*. Comme nous le dirons ultérieurement, nous avons fait une constatation analogue en recherchant le virus dans la salive des porteurs.

Il y a donc lieu de conclure que *le succès de l'inoculation du virus humain, quelle que soit son origine (cerveau, sécrétions naso-pharyngées, salive, liquide céphalo-rachidien, etc.), dépend avant tout, de la sensibilité de l'animal auquel on s'adresse.* Certains lapins, plus réceptifs que d'autres, contractent l'encéphalite mortelle, lorsqu'on leur inocule des quantités faibles du germe, relativement peu virulent, qui existe chez l'homme. Mais, lorsqu'on expérimente avec le même germe, transformé en *virus fixe*, ces différences de réceptivité disparaissent ; l'inoculation est, dans ce cas, toujours suivie de succès, quelle que soit la résistance de l'animal.

*
* *

2° Animaux réceptifs. — Nous avons insisté, dans notre premier Mémoire, sur la réceptivité du *lapin*, du *cobaye* et du *singe* à l'égard du virus encéphalitique. Nous rappellerons que l'encéphalite expérimentale est constamment mortelle pour le lapin, tandis que la poliomyélite ne l'est pas toujours pour le singe. Nous n'avons relevé, au cours de nos nombreuses expériences, aucune exception à cette règle : *tous les lapins, infectés par inoculation de virus dans le cerveau, ont succombé.*

La *souris* se montre sensible au germe de l'encéphalite. A la condition d'employer un virus très actif, ayant subi de nom-

breux passages sur le lapin, cette espèce animale contracte la maladie par inoculation du germe dans le *cerveau*, dans le *péritoine* et même sous la *peau* (nous avons montré ailleurs que le lapin est réfractaire à l'injection sous-cutanée de virus fixe) [1].

Expérience. — Trois souris (1, 2 et 3) sont inoculées dans le cerveau avec le *virus fixe* (*C*).

Technique de l'inoculation cérébrale. — On perfore le crâne de la souris à l'aide d'une aiguille à dissection, après désinfection de la peau ; l'aiguille fine de la seringue est introduite par l'orifice ainsi pratiquée et enfoncée légèrement ; puis on injecte une trace d'émulsion virulente.

Les trois souris succombent le *troisième jour*, ayant présenté le syndrome connu des *souris dansantes* (2). Lésions caractéristiques d'encéphalite : hémorragies corticales, manchons périvasculaires à lymphocytes et à gros mononucléaires, petits foyers d'encéphalite aiguë à polynucléaires, localisés dans la zone corticale.

Le cerveau de la *souris* 3 sert à faire un passage sur le *lapin* 43 ; celui-ci meurt le quatrième jour, avec des altérations cérébrales caractéristiques. Le même cerveau est inoculé, par voie intracranienne, aux *souris* 5 et 6 ; celles-ci succombent après quarante-huit heures (lésions cérébrales typiques).

Avec la matière cérébrale de la *souris* 3, on inocule dans le *péritoine* la *souris* 7, et *sous la peau* la *souris* 8. La première meurt le *septième jour* : son cerveau, altéré histologiquement, est injecté dans l'encéphale du *lapin* 58, qui meurt d'encéphalite le dixième jour. La seconde succombe le *huitième jour* et montre des altérations de méningite à mononucléaires et des hémorragies cérébrales ; passage positif sur le *lapin* 59 (encéphalite le sixième jour).

Ces expériences montrent que *la souris est sensible au virus de l'encéphalite* ; elle contracte la maladie après une incubation de deux à trois jours, après injection intracérébrale, ou de huit jours après inoculation sous la peau ou dans le péritoine.

L'ingestion de grandes quantités de cerveau virulent est inoffensive pour cette espèce animale.

Conclusions. — 1° *Le virus de l'encéphalite peut être décelé dans les sécrétions naso-pharyngées des malades, par inoculation de ces sécrétions à la cornée du lapin* ;

2° *La souris est sensible au virus de l'encéphalite, inoculé non*

(1) Au cours d'expériences de vaccination par inoculation de virus vivant sous la peau, des lapins sont morts 27, 41 et 46 jours après la première injection. Chez aucun d'eux, nous n'avons constaté de symptômes ni de lésions d'encéphalite.

(2) L'animal, très agité, saute dans son bocal, pour heurter le couvercle.

seulement par la voie cérébrale, mais aussi par les voies péritonéale et sous-cutanée.

II. — Étude de l'incubation.

Nous avons précisé, dans notre premier Mémoire, la *durée* de la période d'incubation de la maladie expérimentale, et insisté sur les rapports entre cette durée et la voie de pénétration du virus. Chez les lapins inoculés dans le cerveau avec le *virus fixe*, la maladie se déclare le quatrième, le cinquième ou le sixième jour ; chez ceux qui ont reçu le germe par la voie oculaire (cornée ou chambre antérieure), l'incubation est sensiblement plus longue : elle atteint huit, dix et douze jours. Cependant, il peut arriver que des lapins injectés dans l'encéphale avec un virus qui provoque habituellement l'infection au bout de cinq à six jours, succombent dès le *troisième jour*. Chez ces animaux, les cultures du cerveau et des organes restent stériles et les lésions cérébrales sont celles de l'encéphalite. On peut admettre que cette incubation, exceptionnellement courte, est due à la réceptivité plus accusée de certains lapins à l'égard d'un virus, dont l'activité pathogène a été exagérée par de nombreux passages.

Quoi qu'il en soit, la période d'incubation dans l'encéphalite expérimentale s'accompagne de phénomènes indiquant que, déjà pendant cette période, l'organisme se trouve aux prises avec le virus et que des réactions générales précèdent la pullulation du germe dans l'axe cérébro-spinal. Ces phénomènes sont : la *fièvre* et les *modifications sanguines*.

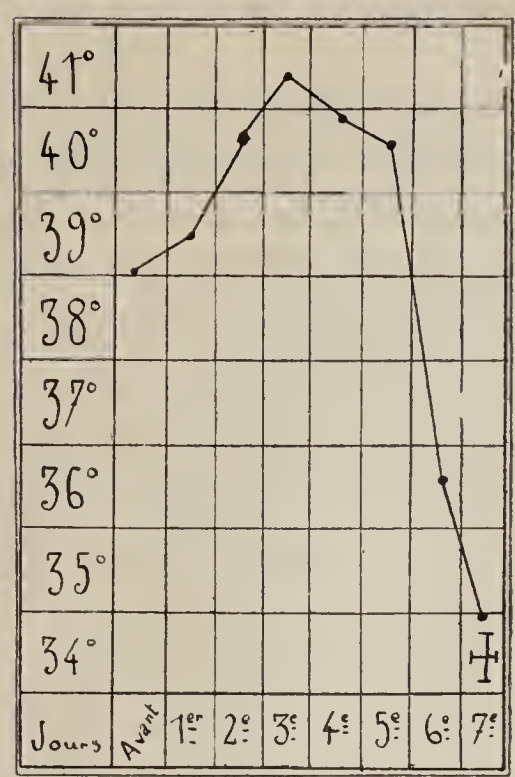
a) Fièvre. — La période d'incubation est caractérisée par une élévation de la température, qui débute le *deuxième* ou le *troisième* jour, augmente progressivement et atteint rapidement 41°. Cette fièvre rappelle la *fièvre prémonitoire* décrite dans la *rage* par Babès (1) et Högyes, Himmel (2) et Löte (3). Elle se maintient au moment où les symptômes encéphali-

(1) Babès et Hogyes, dans Babès. *Traité de la rage*, Baillière, 1912, Paris ; Ces *Annales*, 1888, n° 7, p. 374.
(2) Himmel. *Lancet*, 1886, **50**, p. 1124, d'après Babès.
(3) Löte. *Owosi hetilap*, 1887, d'après Babès.

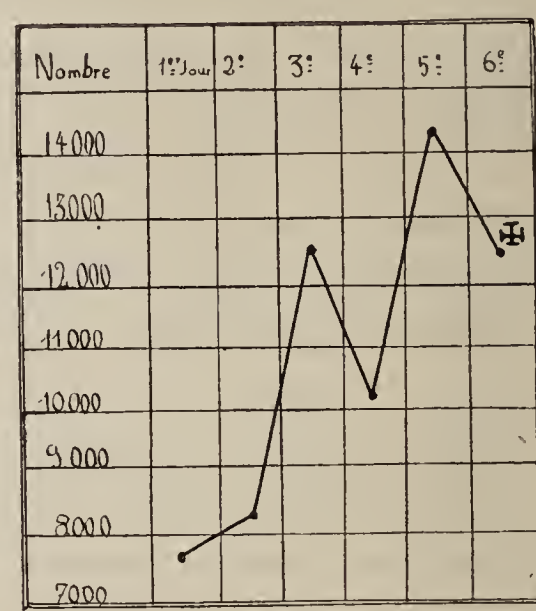
tiques se déclarent, puis fait place à une *hypothermie préagonique*.

Le tracé 1 ci-dessous indique la marche de la *fièvre prémonitoire* encéphalitique.

b) Modifications sanguines. — En même temps que la fièvre, on



Tracé 1.



Tracé 2.

Tracé 1 — *Lapin n°* 48, inoculé avec le *virus fixe C*, par la voie cérébrale. Mort d'encéphalite le 7e jour.

Tracé 2. — *Variations du nombre de leucocytes par millim. cube.* (Lapin 8.)

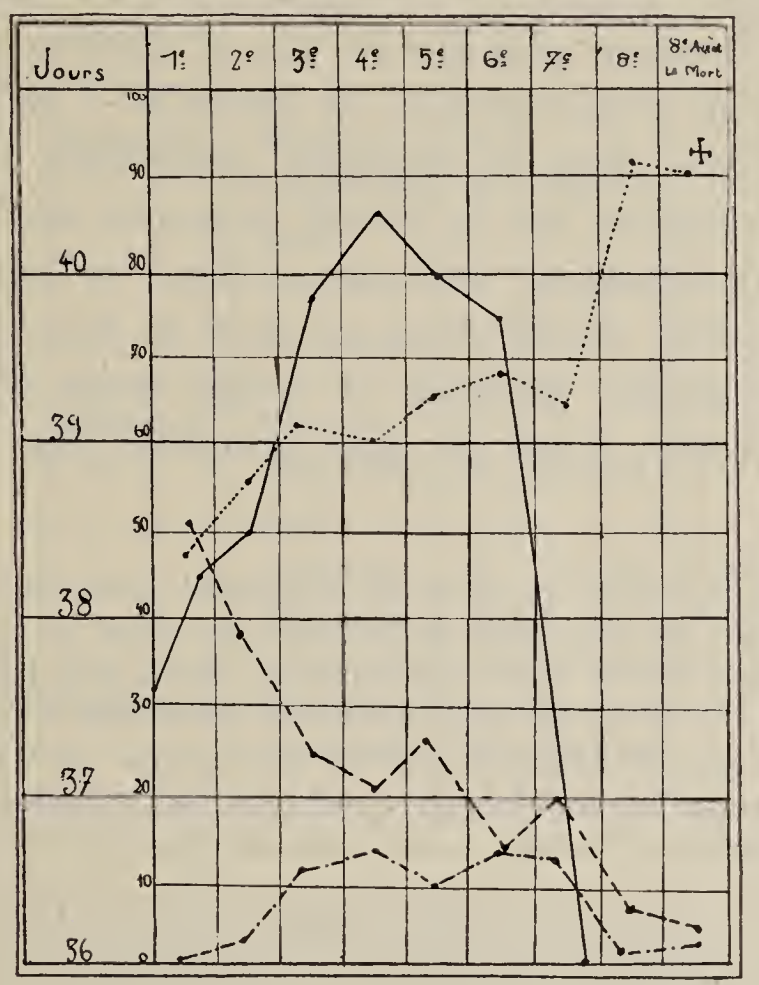
constate une *leucocytose* plus ou moins marquée, pouvant atteindre 18.000 globules blancs par millimètre cube. Cette leucocytose est constante, ainsi que le prouvent les numérations faites par M. Nicolau :

Nombre des leucocytes par millimètre cube.

4 lapins inoculés avec du *virus fixe* par la voie cérébrale.

	LAPIN 7	LAPIN 9	LAPIN 8	LAPIN 10
1er jour	7.700	9.600	7.000	6.600
2e —	8.200	12 600	7.300	11.[illegible]00
3e —	12.600	13.900	12.100	10.500
4e —	10.100	14.300	10.900	9.000
5e —	14.300	16.500	12.800	11.000
6e —	12.500	14 800	»	»
7e —	»	15.300	»	»
8e —	»	18 400	»	»

La leucocytose est due principalement à l'augmentation du nombre des polynucléaires. Il s'agit d'une polynucléose pseudo-éosinophile, avec diminution du nombre relatif des lymphocytes et léger accroissement du chiffre des gros mononucléaires, ainsi qu'il résulte du tracé suivant :



Tracé 3. — *Pourcentage des leucocytes du sang* (pris à la veine de l'oreille) *chez le lapin* 7, *inoculé par la voie cérébrale et mort d'encéphalite le* 8e *jour.*

——— Tracé de la température.
..... Tracé des polynucléaires pseudo-éosinophiles.
- - - - - - - Tracé des lymphocytes.
-·-·-·-·- Tracé des gros mononucléaires.

Si la teneur du sang en *hématies* ne varie pas d'une manière appréciable pendant la période d'incubation, il n'en est pas de même de la *résistance globulaire*. Cette résistance, précisée par la méthode habituelle, diminue sensiblement, ainsi qu'on peut le constater à l'examen des chiffres suivants :

Variations de la résistance globulaire.

1er jour	0,36	p. 100	NaCl.
2e —	0,36	—	—
3e —	0,40	—	—
4e —	0,42	—	—
5e —	0,42	—	—

Lapin no 8, inoculé par la voie cérébrale, mort d'encéphalite le 6e jour.

*
* *

L'incubation traduit le temps qu'utilise le virus pour atteindre les zones sensibles de l'encéphale, s'y multiplier et y engendrer les lésions caractéristiques de l'encéphalite. La durée de cette incubation est d'autant plus brève, que le chemin suivi par le germe — du point d'inoculation au cerveau — est plus court.

Le virus, injecté dans la chambre antérieure de l'œil, ou déposé par scarification sur la cornée (kératite encéphalitique, voir plus loin), *chemine vers le cerveau, le long du nerf optique.* Il peut être décelé dans ce nerf et dans l'encéphale, avant tout symptôme morbide et avant toute lésion histologique appréciable. C'est ce que prouvent les expériences suivantes :

Expérience. — Trois *lapins*, 24, 25 *et* 22, reçoivent, dans la chambre antérieure de l'œil droit, du virus fixe de passage. Le *lapin* 24 est sacrifié par saignée *quarante-huit heures* après l'inoculation, alors qu'il paraissait tout à fait bien portant. On recueille aseptiquement d'une part l'*humeur aqueuse*, qu'on inocule au *lapin* 26; d'autre part le *nerf optique* et un fragment de *cerveau*, qui sont triturés, émulsionnés, puis injectés, le premier au *lapin* 27, et le second au *lapin* 28. Toutes ces inoculations sont faites par voie intracranienne.

Le *lapin* 25 est sacrifié le *huitième jour*, ne présentant aucun trouble apparent. On procède de la même manière avec l'humeur aqueuse, le nerf optique et le cerveau.

Le *lapin* 23 meurt d'encéphalite le quinzième jour (il a servi de témoin) Son humeur aqueuse est inoculée au *lapin* 53.

Le tableau I (page 71) résume les résultats obtenus :

Cette expérience montre que, quarante-huit heures après l'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil, le virus est présent dans le nerf optique et dans le cerveau. Et cependant, l'*existence du virus dans l'axe cérébro-spinal n'avait provoqué aucune lésion histologique appréciable.* Seul, le *lapin témoin 23*, mort d'encéphalite après une incubation de quinze jours, présentait des altérations cérébrales caractéristiques.

Cette expérience prouve encore que *le virus fait défaut dans l'humeur aqueuse*, même chez l'animal mort d'encéphalite. On peut supposer qu'il est détruit par les polynucléaires qui envahissent la chambre antérieure, aussitôt après l'injection, et qu'en raison de son affinité pour les épithéliums ectoder-

miques, il abandonne rapidement l'humeur aqueuse, pour atteindre la rétine et le nerf optique.

TABLEAU I. — **Lapins inoculés dans la chambre antérieure de l'œil.**

NUMÉRO	SACRIFIÉS après	LÉSIONS cérébrales	PRODUITS inoculés	LAPINS inoculés	MORT LE	LÉSIONS cérébrales	PASSAGE
24	48 heures.	Absentes.	Humeur aqueuse.	N° 26	Surviv.	»	»
			Nerf optique.	27	8e jour.	Positif.	Posit. + 7e j.
			Cerveau.	28	7e —	Positif.	»
25	8e jour.	Absentes.	Humeur aqueuse.	40	Surviv.	»	»
			Nerf optique.	39	9e jour.	Positif.	Posit. + 5e j
			Cerveau.	38	14 —	Positif.	»
23	Mort le 15e j.	Présentes.	Humeur aqueuse.	53	Surviv.	»	»

Le virus chemine donc rapidement le long de la rétine (1) *et du nerf optique vers l'axe encéphalo-médullaire*. Sa présence dans ce nerf laisse des traces décelables histologiquement. En effet, nous avons constaté, sur les coupes des nerfs optiques provenant d'animaux infectés par la voie oculaire, des lésions consistant en une accumulation de lymphocytes dans les espaces lymphatiques et en manchons périvasculaires au niveau du névrilemne.

Cette rapidité d'envahissement des centres nerveux est prouvée mieux encore par l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE. — Quatre *lapins*, 21-*A*, 15-*O*, 14-*O* et 17-*O* sont infectés par scarification de la cornée droite avec le *virus fixe C*. Le dernier animal sert de témoin. Aux trois autres, on énuclée l'œil droit *un jour*, *deux jours*, *quatre jours* après l'inoculation.

Résultat. — Le *lapin témoin* 17-*O* est mort d'encéphalite le huitième jour, après avoir présenté une kérato-conjonctivite (lésions cérébrales typiques).

Le *lapin* 21-*A*, *opéré vingt-quatre heures après l'infection*, a succombé

(1) Sa présence dans la rétine a été prouvée par des expériences relatées dans notre premier Mémoire.

d'encéphalite le quatorzième jour (lésions caractéristiques, passage positif, mort le cinquième jour).

Le *lapin* 15-*O*, *opéré quarante-huit heures après l'infection*, est mort le dixième jour et a présenté des altérations hémorragiques (passage positif, mort le sixième jour).

Le *lapin* 14-*O*, *opéré quatre jours après la scarification*, présente de la kératite et succombe le *neuvième jour* (lésions manifestes, passage positif, mort le sixième jour).

Cet essai prouve que, *malgré l'énucléation du globe oculaire vingt-quatre heures après l'application du virus sur la cornée, l'animal contracte l'encéphalite.* Le germe a déjà envahi la rétine et le nerf optique.

On pourrait objecter à cette expérience que le virus, déposé sur la cornée, a gagné le sac conjonctival, et que l'infection s'est faite par la conjonctive, malgré l'énucléation du globe oculaire. Mais nous démontrerons plus loin que la conjonctive saine ne se prête pas à l'envahissement de l'organisme par le germe. En outre, l'expérience suivante, dans laquelle l'inoculation de l'émulsion virulente fut pratiquée, non pas sur la cornée, mais dans l'espace clos de la chambre antérieure de l'œil, élude l'objection formulée plus haut.

Expérience. — On inocule une petite quantité d'émulsion virulente dans la chambre antérieure des *lapins* 4-*B* et 7-*B*, en ayant soin d'éviter tout écoulement de virus vers l'extérieur (cautérisation du point de pénétration de l'aiguille).

L'énucléation du globe oculaire est pratiquée après *vingt-quatre heures* chez le *lapin* 4-*B* ; après *quatre jours*, chez le *lapin* 7-*B*.

Résultat. — Le *lapin* 4-*B* (*opéré après vingt-quatre heures*) meurt d'encéphalite le onzième jour (lésions caractéristiques, passage positif, mort après six jours).

Le *lapin* 7-*B* (*opéré le quatrième jour*) succombe le onzième jour (altérations typiques, passage positif, mort le septième jour).

Ainsi, malgré l'introduction du virus dans la chambre antérieure et l'extirpation du globe oculaire vingt-quatre heures après, l'animal contracte l'encéphalite. *La rapidité de la propagation du germe le long des nerfs ne laisse donc aucun doute.*

*
* *

Les résultats précédents prouvent qu'entre le moment où le virus parvient dans l'encéphale et celui où éclatent les symp-

tômes nerveux et apparaissent les lésions, il s'écoule un certain temps (en général quelques jours), pendant lequel on ne constate que de la fièvre et des modifications sanguines. Au cours de l'incubation, le germe cherche à s'acclimater au milieu cérébral ; il essaie de vaincre la résistance que lui oppose la cellule nerveuse, dont il tente la pénétration, afin d'y trouver le milieu de culture qui lui convient le mieux.

On pouvait donc supposer que si, par un moyen quelconque, on réussissait à diminuer cette résistance cellulaire et à faciliter la pénétration du microbe dans les neurones cérébraux, la période d'incubation se trouverait raccourcie et l'évolution de la maladie aggravée. Nous avons constaté, à plusieurs reprises, au cours d'une série de passages successifs de virus fixe, que certains animaux succombent d'encéphalite le deuxième jour au lieu du cinquième (chiffre habituel) : la diminution de la résistance cellulaire se trouve, dans ce cas, effectuée spontanément par suite de la réceptivité exceptionnelle de l'animal. La même hypersensibilité peut être réalisée par un artifice, qui consiste à administrer divers *narcotiques* aux lapins, sitôt l'inoculation de virus pratiquée dans le cerveau ou ailleurs.

Expérience. — **Chloral.** — Les *lapins* 16-*B* et 18-*B* sont infectés par voie cérébrale avec du *virus fixe C.* Le premier sert de témoin. Le second reçoit, le jour même de l'inoculation, 0 gr. 25 d'hydrate de chloral par la voie veineuse, et 0 gr. 5 le lendemain. Sommeil profond pendant une heure environ.

Résultat. — Le témoin succombe d'encéphalite le sixième jour. Le lapin chloralisé 18-*B* meurt le *deuxième jour* (lésions intenses, à prédominance de polynucléaires ; passage positif, mort le cinquième jour).

L'injection intracérébrale de *cerveau normal*, suivi de chloralisation, ainsi que l'injection simple de chloral à des lapins neufs (témoins de l'expérience précédente) permettent la survie des animaux.

Expérience. — **Ether.** — Le *lapin* 46-*B* et le *lapin* 44-*B* sont infectés comme les précédents. Le premier sert de témoin. Le second est éthérisé par inhalation, dès l'inoculation du virus et le lendemain. Il est malade dès le matin du deuxième jour : sa respiration est fréquente, stertoreuse, il se montre excitable et présente une parésie manifeste des membres antérieurs. L'animal meurt le matin du troisième jour (lésions caractéristiques à prédominance de polynucléaires, passage positif, mort le cinquième jour). Le témoin est bien portant le deuxième et le troisième jour; il succombe d'encéphalite typique le quatrième jour.

Expérience. — **Chloroforme.** — Les *lapins* 68-*B* et 67-*B* sont infectés avec le même virus, mais par la voie de la *chambre antérieure.* Le premier sert de témoin : il succombe d'encéphalite le *onzième jour.* Le second est chloroformisé le jour même de l'inoculation, ainsi que les jours suivants. Il meurt

d'encéphalite le huitième jour, soit *trois jours plus tôt que le témoin* (lésions caractéristiques, passage positif, mort le cinquième jour).

Ainsi, certains anesthésiques, en particulier le chloral, le chloroforme et l'éther, exagèrent manifestement le pouvoir pathogène du virus encéphalitique introduit dans le cerveau, ou dans la chambre antérieure de l'œil. Ils affaiblissent la résistance qu'oppose le protoplasma des neurones cérébraux à la pénétration du germe et à sa pullulation intracellulaire. Grâce à leur affinité spécifique pour les cellules nerveuses, due à leur solubilité dans les lipoïdes [loi d'Owerton et Mayer (1)], ils semblent ouvrir la voie au germe et, lui servant de support, ils le conduisent plus rapidement dans l'intimité du neurone. Il est intéressant de constater que précisément les anesthésiques, qui agissent sur les centres nerveux desquels dépend le sommeil, facilitent l'activité pathogène d'un virus qui offre une affinité pour ces mêmes centres (virus de l'encéphalite dite *léthargique*).

Conclusions. — *La période d'incubation est caractérisée par de la fièvre, suivie d'hypothermie, par une polynucléose et par une diminution de la résistance globulaire. Le virus de l'encéphalite progresse rapidement le long des nerfs. Certains anesthésiques, tels le chloral, l'éther et le chloroforme, abrègent la période d'incubation et aggravent l'évolution de la maladie.*

III. — Symptômes et évolution de la maladie expérimentale.

Nous n'avons rien à ajouter à ce que nous avons relaté dans notre précédent Mémoire, au sujet de la symptomatologie de l'encéphalite expérimentale, sinon que cette symptomatologie diffère sensiblement chez les animaux infectés par la voie oculaire. Il n'est pas rare, en effet, d'observer, chez les lapins inoculés à la cornée ou dans la chambre antérieure, les symptômes suivants : quelque temps avant la période des paralysies et

(1) Il serait intéressant d'étudier les rapports entre la solubilité des anesthésiques dans les lipoïdes (coefficient de partage), leur pouvoir narcotique et l'influence favorisante qu'ils exercent à l'égard des virus neurotropes (encéphalite, rage, poliomyélite).

l'apparition de la somnolence, l'animal, calme jusqu'alors, devient agité et *tourne la tête du côté de l'œil inoculé*. Il s'agit d'une déviation de la tête, bientôt suivie de celle de toute la moitié antérieure du corps. Placé sur le sol, le lapin suit le mouvement de l'extrémité céphalique et se met à tourner dans le même sens. Ces troubles peuvent durer plusieurs jours.

Chez d'autres animaux, infectés par la voie cutanée, la maladie débute *par une paralysie du train postérieur*, comme si le virus, adsorbé au niveau de la peau par les terminaisons des nerfs rachidiens, atteignait d'abord la moelle épinière, en cheminant le long de ces nerfs.

IV. — Histologie pathologique.

Nos expériences nous ont permis de préciser certains détails d'histologie pathologique de l'encéphalite expérimentale :

1° Les altérations parenchymateuses (voy. pl. I, fig. 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10 et 11 ; pl. II, fig. 8) de l'écorce ont un siège de prédilection, au niveau de la base du cerveau, dans la région de l'hippocampe, et que nous avons dénommé : *zone élective* (pl. I, fig. 11). Cette zone offre, au point de vue du diagnostic anatomo-pathologique de l'encéphalite expérimentale, une signification analogue à celle de la *corne d'Ammon* pour le diagnostic de la rage. *Les lésions qu'on y rencontre prouvent l'affinité élective du virus pour les cellules nerveuses.* En effet, les cellules de la substance grise corticale, atteintes les premières par le germe, sont aussi les premières lésées. Leur noyau devient vésiculeux (pl. I, fig. 8, 9 et 10), la chromatine nucléaire se désagrège et s'accumule à la périphérie, pour s'accoler tout contre la membrane nucléaire ; le nucléole se fragmente, les grains oxyphiles qui en dérivent se répandent dans le suc nucléaire et finissent parfois par s'y dissoudre totalement : d'où l'aspect homogène et la teinte oxyphile que revêt le noyau des cellules nerveuses dans certains cerveaux très altérés. Quant au protoplasme, il perd son aspect tigroïde, et laisse voir des granulations qui retiennent fortement l'éosine (coloration par la méthode de Mann).

Très rapidement, de nombreux polynucléaires s'accumulent

autour des cellules nerveuses lésées, dans l'espace péricellulaire. Ils envahissent le protoplasme du neurone et y creusent des logettes, dues à la dissolution des protéines par quelque ferment protéolytique d'origine leucocytaire. Chose frappante, *ces polynucléaires ne tardent pas à s'altérer et à montrer des lésions avancées de pycnose.* Le noyau est réduit à l'état de grains chromatiques plus ou moins volumineux, entourés de granulations pseudo-éosinophiles. Tout se passe comme si le virus, localisé dans la cellule nerveuse, élaborait quelque *toxine leucolytique*, qui provoquerait la mort et la pycnose des polynucléaires. Parfois l'accumulation des leucocytes à noyaux polymorphes est telle, qu'il se forme dans la zone élective de véritables *abcès miliaires.* Enfin, les phénomènes de *neuronophagie*, calqués sur ceux que l'on observe dans la *poliomyélite*, au niveau des cellules pyramidales des cornes antérieures de la moelle, y sont fort accusés.

En ce qui concerne les *lésions méningées* et les *manchons périvasculaires*, nous avons constaté le fait nouveau suivant : lorsque par suite d'une exagération spontanée de l'activité pathogène du germe, due à l'hypersensibilité des animaux en expérience, ou à l'emploi d'un artifice, tel que l'anesthésie (voy. pl. I, fig. 2, 5, 6, 7 et pl. II, fig. 8), la période d'incubation se raccourcit (mort des lapins le deuxième ou le troisième jour), l'aspect des lésions, décrit dans notre premier Mémoire, change. L'examen du cerveau révèle alors une *méningite intense, non pas à mononucléaires, mais presque exclusivement à polynucléaires*; et cependant, tous les ensemencements du cerveau restent négatifs. En même temps, les lésions parenchymateuses sont extrêmement accusées, et les abcès miliaires sous-corticaux particulièrement fréquents.

Il convient donc de faire une restriction à la conclusion énoncée dans notre précédent Mémoire : « *Il suffit de constater sur coupes une méningite à polynucléaires pour exclure le diagnostic d'encéphalite expérimentale.* » Ceci n'est vrai que si les ensemencements du cerveau sur les milieux habituels sont positifs.

Il existe, chez le lapin, des encéphalites qui abondent en polynucléaires, mais elles sont exceptionnelles et ne se retrou-

vent que chez les animaux qui succombent le deuxième ou le troisième jour, ainsi qu'il résulte du tableau suivant :

Fréquence des cas à évolution rapide, au milieu d'une série de passages (Virus fixe C, inoculation intracérébrale).

Lapin 24-O	Mort le 6e *jour.*	
— 42-O	— 3e —	
— 96-O	— 5e —	
— 71-O	— 5e —	
— 92-O	— 3e —	
— 98-O	— 3e —	
— 16-B	— 6e —	
— 40-B	— 3e —	
— 56-B	— 6e —	
— 77-B	— 5e —	

Fréquence de la méningo-encéphalite aiguë à polynucléaires chez les lapins morts après deux à trois jours d'incubation.

Lapin 18-B	Mort le 2e *jour*,	lésions à	polynucléaires.
31-B	— 5e —	—	*mononucléaires.*
30-B	— 5e —	—	*mononucléaires.*
45-B	— 2e —	—	polynucléaires.
46-B	— 3e —	—	polynucléaires.
57-B	— 5e —	—	*mononucléaires.*

L'ensemble de ces constatations prouve que les altérations de l'encéphalite expérimentale évoluent en deux phases : une *phase aiguë*, à prédominance de polynucléaires, de courte durée, correspondant à l'invasion et à la multiplication intense du virus, suivie lorsque les animaux survivent, d'une seconde phase à caractère *plus chronique*, dans laquelle les éléments mononucléaires abondent, soit au niveau des méninges, soit autour des vaisseaux (manchons périvasculaires).

Il est probable que l'évolution des lésions est analogue chez l'homme, les altérations riches en mononucléaires que l'on découvre chez les sujets morts d'encéphalite correspondant à la *phase chronique*. On peut se demander *si l'inconstance de la virulence, pour le lapin, des cerveaux humains n'est pas due précisément à une certaine atténuation que subit le virus pendant cette phase chronique des altérations histopathologiques.*

2° Neurocorpuscules encéphalitiques. — Les analogies entre la rage et l'encéphalite épidémique ont frappé tous les chercheurs qui se sont intéressés à cette dernière maladie. On

connaît l'importance des corpuscules de Négri dans la rage. Peut-on déceler des formations analogues à ces corpuscules dans la maladie de v. Economo?

Plusieurs auteurs ont décrit des inclusions cellulaires encéphalitiques, surtout chez l'homme. Da Fano et Ingleby (1) ont découvert, dans le protoplasma des cellules nerveuses de la protubérance, des granulations colorables en bleu par le bleu de toluidine, se détachant nettement du cytoplasme violet. Ces granulations (*minute bodies*) existent également dans les nodules constatés par les auteurs dans les *glandes salivaires*. De leur côté, Volpino et Desderi (2) décrivent des corpuscules ressemblant aux corps amylacés, mais non identiques à ces corps. Enfin, Ottolenghi, d'Antona et Tonietti (3) décèlent dans les cellules nerveuses du cerveau et du mésocéphale, chez les animaux inoculés avec leur virus « encéphalitique (4) » des granulations acidophiles, se colorant par la méthode de Mann. Ces granulations existent cependant aussi, d'après les auteurs, chez les animaux non inoculés. Ils les ont trouvées chez l'homme atteint d'encéphalite, au niveau du *locus cœruleus*.

Nous avons réussi à mettre en évidence des corpuscules ayant une ressemblance frappante avec le corps de Négri, chez des lapins ayant reçu le virus encéphalitique fixe par la voie cérébrale (voy. pl. I, fig. 1). Ces *neuro-corps encéphalitiques* se colorent par la méthode de Mann et de Lenz, par le safran-éosine-bleu de Unna, par le panchrome de Laveran, après fixation des pièces au Bouin-Brazil. Ils apparaissent exclusivement dans la *zone élective*, au niveau de la région basale du cerveau (hippocampe), là où les altérations cellulaires sont le plus intenses. Ils se

(1) Da Fano. *British med. journ.*, janvier 1921. Cf. également, Miller, même périodique, 20 mars 1920, n° 22.

(2) Volpino et Desderi. *Annales d'Igiene*, 1920, n° 2.

(3) Ottolenghi, d'Antona et Tonietti. *Policlinico*, 1920.

(4) Les recherches d'Ottolenghi, d'Antona et Tonietti (*R. Acad. des phisiocritici in Siena*, février 1920, *Policlinico*, n° 39, 27 septembre 1920) concluent à l'existence, dans le sang et le liquide rachidien des encéphalites fébriles, d'un virus filtrant pathogène pour le *cobaye* et le *chat* (Cf. également Bastai, *Rivista critica di clin. medica*, 25 avril 1910). Ces auteurs ne décèlent que des altérations banales (hyperémie) dans l'encéphale des animaux morts à la suite de l'inoculation, et non pas les lésions si caractéristiques constatées, non seulement chez le lapin, mais aussi chez le cobaye, le singe et la souris, par Levaditi et Harvier. L'identité entre le virus d'Ottolenghi et ses collaborateurs et celui de Levaditi et Harvier reste donc à démontrer.

montrent colorés en rouge vif, surtout dans le noyau de la cellule nerveuse, rarement dans le protoplasma. Au début, il s'agit de petits grains ronds, de 1 μ environ, qui se fusionnent par la suite, pour revêtir des formes irrégulières, ovalaires ou en bissac. Les neuro-corps sont entourés d'un halo clair (pseudo-capsule) et paraissent posséder une structure difficile à bien définir. Il s'agit, très probablement, d'une dégénérescence oxyphile du nucléole, provoquée par le germe de l'encéphalite, dont la présence dans le noyau des cellules nerveuses paraît ainsi démontrée. Ces corps offrent quelque analogie avec ceux décrits par Sanfelice (1) dans le *Molluscum contagiosum*.

Nous avons essayé de préciser leur fréquence dans le cerveau des animaux morts d'encéphalite, en pratiquant l'examen d'un très grand nombre d'encéphales par les méthodes sus-indiquées. La présence des neuro-corps a été révélée dans environ 13 p. 100 des cas ; ils sont donc manifestement plus rares que les corps de Négri dans la rage.

Quoi qu'il en soit, la ressemblance frappante entre les neuro-corps encéphalitiques et les corps de Négri constitue une analogie de plus entre la maladie de v. Economo et la rage.

V. — Nouvelles propriétés du virus encéphalitique.

Nous avons insisté, dans notre premier mémoire, sur certaines propriétés du virus encéphalitique, à savoir : sa *filtrabilité*, sa conservation dans la *glycérine* et à l'*état sec*, l'action de la *chaleur* et de l'*acide phénique*, ainsi que celle de l'*autolyse cadavérique*. Depuis, nous avons précisé de nouvelles propriétés et complété certains détails concernant celles qui avaient été déjà étudiées.

1° Dilution. — *A quelle dilution le virus encéphalitique est-il encore capable de conférer la maladie aux animaux sensibles?*

Expérience. — 0 gr. 25 de cerveau, provenant d'un lapin infecté par voie cérébrale et mort d'encéphalite, sont triturés, puis émulsionnés dans 25 cent. cubes d'eau salée isotonique. Cette émulsion à 1 p. 100 sert à préparer des dilutions à 1 p. 1.000, 1 p. 10.000, 1 p. 100.000, 1 p. 1.000.000. On injecte 0,25 de chaque dilution dans le cerveau d'un lapin. Un autre animal, servant de

(1) Sanfelice. *Jubilé Metchnikoff*, 16 mars 1915, p. 328, Masson.

témoin, reçoit la suspension cérébrale concentrée. Le résultat de l'expérience est résumé dans le tableau suivant :

TITRE DE LA SOLUTION	LAPIN N°	RÉSULTAT
Solution concentrée	65-M	Mort le 5e jour.
Dilution à 1/100	64-M	— 6e —
— 1/1.000	63-M	— 7e —
— 1/10.000.	62-M	Survit.
— 1/100.000	61-M	—
— 1/1.000.000	60-M	—

L'expérience montre que *le virus encéphalitique fixe est pathogène, par injection intracérébrale, à la dilution de 1 : 1.000 et qu'il se montre inoffensif à une concentration dix fois moindre* (1/10.000).

2° Dessiccation. — Nos premiers essais nous avaient montré que le germe encéphalitique desséché, soit dans le vide sulfurique, soit sur de la potasse à 22°, conserve sa virulence au moins pendant *quatre jours*. De nouveaux essais ont prouvé que la dessiccation permet la conservation de la virulence pendant un temps bien plus long.

Expérience. — Du cerveau virulent est desséché dans le vide sur du pentoxyde de phosphore. La virulence de la poudre est éprouvée par injection intracranienne, le *cinquième jour* et le *quarante-quatrième jour*.

Lapin 21, reçoit une émulsion de la poudre desséchée depuis *quarante-quatre jours*. Il succombe d'encéphalite le troisième jour (passage positif).

La dessiccation dans le vide permet donc de conserver la virulence du germe encéphalitique pendant quarante-quatre jours au moins.

3° Action de la centrifugation. — Expérience. — Une émulsion cérébrale virulente est centrifugée (centrifugeur Jouan) pendant vingt minutes Le liquide surnageant est à peine opalescent.

Lapin 50-*M*, reçoit dans le cerveau 0 c. c. 2 de l'émulsion *non centrifugée*. Il meurt d'encéphalite le sixième jour (lésions caractéristiques). *Lapin* 53-*M*, est inoculé par la voie intracranienne, avec le *liquide surnageant* (0 c. c. 2). Il succombe d'encéphalite le huitième jour (altérations typiques).

La centrifugation prolongée d'une émulsion cérébrale virulente ne débarrasse pas le liquide surnageant de son pouvoir pathogène.

4° Action de la bile. — Il a été démontré que la bile détruit *in vitro* le virus rabique (Vallée, Kraus, v. Eisler) et qu'elle se montre indifférente à l'égard du germe de la poliomyélite (Landsteiner et Levaditi) (1). Exerce-t-elle une action sur le virus encéphalitique?

Expérience. — On ajoute à 1 cent. cube d'émulsion cérébrale virulente (préalablement clarifiée par centrifugation) 0 c. c. 5 de bile de lapin. Un mélange témoin est fait avec les mêmes quantités de virus et d'eau salée isotonique. Séjour pendant vingt heures à la glacière, puis inoculation dans la chambre antérieure de l'œil au *lapin* 43-*M* (*mélange de virus et de bile*) et 41-*M* (mélange de virus et d'eau salée). Ce dernier lapin *témoin* présente une kératite intense et de la conjonctivite; il meurt d'encéphalite le vingt et unième jour (lésions intenses et caractéristiques; passage positif, mort le cinquième jour). Le *lapin* 43-*M*, inoculé avec le virus soumis à l'action de la bile, offre une opacité de la cornée, mais survit. *Cinquante-trois jours* après, on essaie sa réceptivité en lui inoculant du virus actif par scarification de la cornée de l'œil opposé (le *lapin* 33-*A* sert de témoin). Le *lapins* 43-*M* présente une kératite intense le deuxième jour et succombe le treizième avec des altérations typiques et marquées d'encéphalite. Le témoin se comporte de même, mais après une incubation plus courte (neuf jours).

Dans une seconde expérience, nous nous sommes servis de la voie cornéenne pour éprouver la virulence du mélange de virus et de bile. On ajoute à une émulsion dense de cerveau virulent un volume équivalent de bile de bœuf stérilisée. Séjour pendant vingt heures à la glacière. Les *lapins* 73-*A* et 74-*A* sont inoculés par scarification de la cornée avec le mélange virus + bile; le *lapin* 75-*A*, servant de témoin, reçoit, par la même voie, un mélange de virus et d'eau salée isotonique. Ce dernier animal meurt d'encéphalite le dixième jour (lésions histologiques intenses). Le *lapin* 73-*A* montre une kératite le cinquième jour, mais *survit*. L'autre animal (74-*A*) ne réagit pas localement et survit également. *Trente-quatre jours* après l'inoculation, on répète à nouveau la scarification cornéenne avec un mélange de bile et de virus, simultanément sur les deux yeux du *lapin* 73-*A* et du *lapin neuf* 13-*O*. Ni l'un ni l'autre ne contractent l'encéphalite. *Quarante jours après* la première scarification, pour le premier animal, et six jours pour le second, on essaie leur réceptivité en leur inoculant, par la même voie, du virus frais (le *lapin* 32-*O* sert de témoin). *Les trois animaux présentent une kérato-conjonctivite et succombent d'encéphalite le dixième jour.*

L'ensemble de ces recherches met en lumière *l'action destructive exercée* in vitro *par la bile sur le germe de l'encéphalite.* L'inoculation, soit à la cornée, soit dans la chambre antérieure, du virus neutralisé par la bile, *ne confère aucune immunité, ni locale, ni générale. Au point de vue de sa sensibilité à l'égard de la bile, le virus encéphalitique se comporte donc comme celui de la rage.*

(1) Landsteiner et Levaditi. Ces *Annales*, 25, 1911, p. 806.

5° Action des matières colorantes. — Nous avons étudié l'action *in vitro* de plusieurs matières colorantes sur le virus encéphalitique, à savoir : le *Chlorhydrate de parafuchsine*, le *Trypanroth*, le *Tryparosan*, le *Bleu de méthylène* (médicinal), le *Bleu de méthylène argenté*.

Expériences. — Solutions des couleurs à 1/100, stérilisées pendant 10 minutes à 120°. Mélange à parties égales de virus (émulsion clarifiée par centrifugation) et des solutions colorées; contact pendant trois heures à 37°. Injection de 0 c. c. 1 dans la chambre antérieure de l'œil.

Résultats :

1° **Chlorhydrate de parafuchsine.** — *Lapin* 39-*B*. Meurt le vingt-quatrième jour (*absence de lésions*, passage négatif) ;

2° **Trypanroth.** — *Lapin* 10-*B*. Meurt le *trente et unième jour* (*absence de lésions*) ;

3° **Tryparosan.** — *Lapin* 11-*B*. *Survit*. Réinfecté *trente-quatre jours après*, en même temps que le témoin 2-*A*, il meurt d'encéphalite le huitième jour (lésions caractéristiques). Le témoin succombe le neuvième jour (lésions typiques) ;

4° **Bleu de méthylène.** — *Lapin* 9-*B*. Meurt le vingt-troisième jour (*absence de lésions*) ;

5° **Bleu de méthylène argenté.** — *Lapin* 93-*O*. Survit. Réinfecté *trente-quatre jours après*, en même temps que le témoin 2-*A* (voir plus haut), meurt d'encéphalite le neuvième jour (lésions typiques).

6° *Lapin témoin* 78-*B* : Meurt d'encéphalite le douzième jour (lésions caractéristiques intenses).

Chez les animaux ayant reçu dans la chambre antérieure le mélange de couleur et de virus, il a été constaté une forte réaction locale : opacité de la cornée et exsudat fibrino-leucocytaire.

Cette expérience montre que *toutes les couleurs employées détruisent le virus encéphalitique* in vitro; *l'injection du mélange dans la chambre antérieure ne provoque ni maladie, ni immunité locale ou générale.*

6° Action des antiseptiques. — Nous avons étudié l'action *in vitro* de divers antiseptiques, tels que *le thymol*, *l'huile mentholée*, le mélange de *menthol*, *salol* et *acide borique*, et le *permanganate de potasse*. Seules les expériences faites avec ce dernier mélange et le permanganate ont fourni des résultats probants. Les voici :

Expériences. — 1° Mélange { *Menthol* . . . . . 0 gr. 2
Salol. . . . . 5 gr.
Acide borique . . 20 gr. }

On ajoute à 2 cent. cubes d'émulsion virulente 0 gr. 05 de la poudre. Contact pendant deux heures à la température de la chambre. Injection au *lapin* 50-*A* (0 c. c. 2 dans le cerveau). Mort le troisième jour (lésions typiques).

2° *Permanganate de potasse* à 2 p. 1.000. On fait un mélange, à parties égales, de virus et de la solution de permanganate. Après une heure de contact à la température de la chambre, on en inocule 0 c. c. 2 dans le cerveau du *lapin* 58-*A*. L'animal survit. Un lapin *témoin* 56-*A*, ayant reçu le virus seul, succombe d'encéphalite le sixième jour.

Ainsi la poudre *menthol-salol-acide borique* ne paraît pas détruire le virus encéphalitique *in vitro*, tandis que le permanganate de potasse à 1 p. 1.000 le neutralise complètement. *Puisque la contamination, dans la maladie de v. Economo, se fait surtout par le naso-pharynx* (v. notre premier Mémoire), *il serait indiqué de pratiquer des lavages du nez et de la gorge au permanganate, afin de détruire le germe et d'empêcher sa pénétration par la muqueuse naso-pharyngée.*

7° Conservation du virus dans le lait et l'eau. — Il était intéressant d'examiner la conservation du virus encéphalitique dans le lait et dans l'eau, afin de préciser si la maladie peut se transmettre par ingestion d'eau ou de lait contaminés.

Expérience. — On ajoute à 5 c. c. de lait de vache, stérilisépar tyndallisation, 1 c. c. d'émulsion cérébrale virulente. Des mélanges semblables, mais dans lesquels le lait est remplacé par l'eau stérilisée, sont préparés simultanément. Le tout est conservé à la température de la chambre.

a) **Lait.** — 1er *essai* : Après *cinq jours de conservation*, injection de 0 c. c. 2 dans le cerveau du *lapin* 36. Encéphalite le sixième jour (passage positif).

2e *essai* : Après *quinze jours de conservation*, inoculation au *lapin* 54. Encéphalite le cinquième jour (passage positif).

3e *essai* : Après *soixante jours de conservation*, inoculation au *lapin* 99. Encéphalite le neuvième jour (passage positif).

4e *essai* : Après *quatre-vingt-seize jours de conservation*, inoculation au *lapin* 38-O. Encéphalite le septième jour (passage positif).

5e *essai* : Après *cent trente-trois jours de conservation*, inoculation au *lapin* 85-A. L'animal *survit*. Réinfecté vingt trois jours après, il succombe d'encéphalite le *quatrième jour* (lésions typiques).

b) **Eau.** — Après *quinze jours de conservation*, inoculation au *lapin* 55. Encéphalite le septième jour (passage positif).

Ces expériences montrent que *le virus encéphalitique se conserve à la température de la chambre au moins quatre-vingt-*

seize jours dans le lait et quinze jours dans l'eau. Cette conservation, pendant un temps assez prolongé, rend plausible l'hypothèse d'après laquelle l'eau et surtout le lait pourraient jouer le rôle de vecteur de germes dans la propagation de l'encéphalite épidémique (1).

8° Diffusion. — Le germe de l'encéphalite est-il diffusible dans un milieu qui permet la conservation de ses qualités pathogènes? Nous avons entrepris deux séries de recherches dans cette direction : la première concerne la diffusion dans la *glycérine*, la seconde la diffusibilité dans la *gélatine*.

a) *Diffusion dans la glycérine.* — Un fragment de cerveau virulent est introduit dans un petit flacon contenant de la glycérine, en même temps qu'un fragment de cerveau et de rein provenant d'un lapin neuf. Le tout est conservé à la température de la chambre et à l'obscurité. Des essais de virulence (inoculations intracérébrales) ont été pratiqués le neuvième et le vingt-neuvième jour.

Résultat :

MATÉRIEL INOCULÉ	1er ESSAI (9e JOUR)	2e ESSAI (29e JOUR)
Cerveau virulent. .	*Positif* (+ 8e jour).	*Positif* (+ 8 j.), passage positif.
— *normal.* .	Négatif.	Négatif.
Rein normal. . . .	Négatif.	Négatif.
Glycérine	Négatif.	Négatif.

Cette expérience prouve que *le germe de l'encéphalite ne diffuse ni dans la glycérine, ni dans les fragments d'organes* (cerveau, rein) *normaux, qui se trouvent en contact presque immédiat avec le cerveau virulent.*

b) *Diffusion dans la gélatine.* — On verse dans un large tube à essai contenant de la gélatine solidifiée (20 p. 100) une émulsion virulente, préalablement filtrée sur papier filtre (4 cent. cubes). Le tout est conservé à la température du laboratoire. Le septième jour, on recueille l'émulsion qui surnage et on découpe le cylindre de gélatine en trois tronçons. Chacun de ces tronçons, ainsi que l'émulsion surnageante, servent à infecter des lapins par la voie cérébrale.

Résultats : *Lapin* 5-A, reçoit l'émulsion. *Mort d'encéphalite* le septième jour.
— 7-A, — le fragment de gélatine *supérieur* = survit.
— 8-A, — — — *moyen* = survit.
— 6-A, — — — *inférieur* = survit.

(1) Des essais de culture dans le lait de vache et de femme, à 37°, sont restés *négatifs*.

Le virus encéphalitique ne diffuse pas dans la gélatine.

Conclusions. — *Le virus de l'encéphalite se conserve longtemps dans l'eau et le lait, ainsi qu'à l'état sec; il est détruit par la bile et certaines couleurs et antiseptiques (tel le bleu de méthylène et le permanganate de potasse); il agit après dilution au* 1/1.000 *dans l'eau salée isotonique, et ne paraît pas diffuser facilement dans la glycérine et la gélatine.*

VI. — Voies de pénétration.

La pénétration du virus par *la voie cérébrale*, *oculaire* (chambre antérieure) et par celle des *nerfs périphériques*, ainsi que par la voie *cutanée*, *sanguine*, *péritonéale*, *gastrique* et *salivaire* (glande sous-maxillaire), a été étudiée dans notre premier Mémoire. Nous avons indiqué également que le *testicule* et la *muqueuse nasale* peuvent servir de portes d'entrée. Ce chapitre est consacré à l'examen de nouveaux faits concernant le mode d'inoculation et les voies de pénétration du germe encéphalitique.

1° Voie intramusculaire. — On injecte dans le muscle de la nuque du *lapin* 31-*M* 2 cent. cubes de virus fixe et on renouvelle cette inoculation quarante-huit heures après. L'animal est malade le onzième jour et meurt d'encéphalite le douzième (lésions caractéristiques). Le cerveau, conservé quinze jours dans la glycérine, est injecté par voie cérébrale au *lapin* 4-*A*. Celui-ci succombe d'encéphalite le huitième jour (passage positif).

2° Voie intrapéritonéale. — Des expériences antérieures nous avaient montré que le virus, après quelques passages, devenait inoffensif, lorsqu'on l'introduisait par la voie péritonéale. Répétées plus tard, alors que le germe, par suite de nombreux passages, s'était mieux adapté à l'organisme du lapin, ces expériences ont fourni des résultats positifs.

Expérience. — On inocule dans le péritoine des *lapins* 69-*M* et 91-*M*, 10 cent. cubes d'émulsion cérébrale virulente; l'inoculation intrapéritonéale est répétée huit jours après. Le *lapin* 91-*M* succombe le quinzième jour. Le *lapin* 89-*M* meurt le dix-neuvième jour; on constate chez ce dernier des lésions cérébrales caractéristiques.

L'ensemble de ces recherches montre que *le virus encéphalitique est pathogène pour le lapin par inoculation intramuscu-*

laire; *il se comporte à ce point de vue comme le virus rabique.* Par la voie péritonéale, le microbe n'est actif qu'à la condition d'avoir subi de nombreux passages cérébraux sur le lapin. Nous avons vu que, dans ces conditions, il est également infectant pour la souris.

D'ailleurs, *le virus semble disparaître assez rapidement de l'exsudat péritonéal*, ainsi qu'il résulte de l'expérience suivante :

Expérience. — Les *lapins* 78-*M et* 1-*A* reçoivent 10 cent. cubes d'émulsion virulente dans la cavité péritonéale. Le premier est sacrifié le *deuxième jour*. Le péritoine renferme environ 0 c. c. 5 d'exsudat, que l'on dilue par moitié avec de l'eau salée isotonique (lavage du péritoine). Le liquide exsudatif est inoculé dans le cerveau du *lapin* 35-*A* ; celui-ci succombe d'encéphalite le cinquième jour (lésions intenses, passage positif). Le *lapin* 1-*A* est sacrifié le *troisième jour*. On recueille dans son péritoine 1 cent. cube environ d'exsudat contenant des mononucléaires, dont on injecte 0 c. c. 2 par voie cérébrale au *lapin* 14-*A* ; celui-ci succombe le treizième jour, sans lésions du cerveau (*passage négatif*).

Le virus de l'encéphalite, introduit dans la cavité péritonéale du lapin, y est présent le deuxième jour, et disparaît le troisième. Encore une analogie avec le virus rabique qui, lui aussi, disparaît rapidement du péritoine.

3° Voie trachéale (1). — Une émulsion virulente, préalablement centrifugée, est inoculée à la dose de 0 c. c. 5 dans la trachée du *lapin* 20-*A*. L'animal succombe le quinzième jour. On constate, à la nécropsie, un état congestif du poumon. Les cultures du cerveau restent négatives. L'étude histologique montre des lésions caractéristiques de l'encéphale, localisées au niveau de la « zone élective ». Passage cérébral sur le *lapin* 93-*A* ; celui-ci meurt d'encéphalite le cinquième jour (lésions typiques).

Le virus encéphalitique est donc pathogène lorsqu'il est inoculé par la voie trachéale.

4° Réceptivité de la muqueuse conjonctivale. — Nous avions conclu, de nos premières recherches, que « *si la muqueuse nasale oppose une certaine résistance à la pénétration du virus dans l'organisme, par contre, la même muqueuse, une fois lésée par un traumatisme, ou par un processus inflammatoire artificiel, devient perméable à ce virus* ». Il en est de même pour la

(1) Une expérience analogue, faite avec du virus moins adapté à l'organisme du lapin nous avait donné un résultat négatif (v. notre premier Mémoire).

muqueuse conjonctivale, ainsi qu'il résulte des expériences suivantes :

Expériences. — 1° *Instillation de virus dans le sac conjonctival.* Les *lapins* 19-*B et* 17-*B* reçoivent dans le sac conjonctival plusieurs gouttes d'émulsion virulente (virus de passage) ; on répète cette instillation le lendemain. Les deux animaux n'ont aucune réaction locale et survivent.

2e *Badigeonnage de la conjonctive* (lésion traumatique). On badigeonne fortement la conjonctive gauche du *lapin* 46-*A* à l'aide d'un tampon imbibé de virus. Deux jours après, conjonctivite, s'accompagnant bientôt d'une légère kératite périphérique (pas de suppuration). Ces troubles locaux disparaissent, mais l'animal maigrit et succombe le *quinzième jour*. Lésions typiques, passage positif (mort le cinquième jour).

3° *Instillation de virus dans le sac conjonctival, après badigeonnage de la conjonctive à l'huile de croton* (inflammation préalable).

Le *lapin* 43-*A* reçoit dans le sac conjonctival une goutte d'huile de croton. Peu après, on introduit dans le même sac quelques gouttes d'émulsion virulente. Le lendemain, on constate un chémosis intense et une suppuration de la conjonctive. Ces phénomènes s'atténuent le cinquième jour, mais on observe alors de la kératite. L'animal succombe le *dixième jour*. Lésions caractéristiques, passage positif (mort le cinquième jour).

Ces expériences prouvent *que la muqueuse conjonctivale se comporte comme la muqueuse nasale, pour la pénétration du virus encéphalitique*. Tant que ces muqueuses conservent leur intégrité anatomique, elles s'opposent à la diffusion du germe; mais, dès que cette intégrité est compromise et que l'épithélium est lésé, soit par un traumatisme, soit par un processus inflammatoire quelconque, elles cessent d'opposer une barrière infranchissable; le germe les envahit, y cultive, s'insinue dans les terminaisons nerveuses et, cheminant le long des nerfs, réussit à atteindre l'axe cérébro-spinal.

*
* *

5° Kératite encéphalitique. — Nous avons montré dès février 1921 (1) que le virus de l'encéphalite, inoculé par scarification à la cornée du lapin, non seulement engendre une pustule cornéenne, accompagnée de kératite interstitielle et de conjonctivite suppurée, mais provoque, en plus, une généralisation de l'infection et la mort de l'animal par encé-

(1) Levaditi et Harvier. *C. R. de la Soc. de Biol.*, séance du 12 février 1921, 84, p. 300.

phalite aiguë. Voici les détails de quelques-unes de nos expériences :

Expérience. — Le 18 septembre 1920, on scarifie la cornée droite du *lapin* 28-*M* à l'aide d'un couteau de Graefe chargé d'une émulsion épaisse de cerveau virulent ; on frotte la surface scarifiée au moyen d'un tampon imbibé de la même émulsion. Rien d'appréciable après vingt-quatre heures, mais le *deuxième jour*, on constate le long des stries de scarification une opacité centrale de la cornée et une conjonctivite, qui augmentent de jour en jour. Le 26 septembre, kératite (pustule de la cornée) très marquée, cercle rouge au niveau du limbe, hyperémie des vaisseaux de la sclérotique, suppuration abondante du sac conjonctival, déterminant un accolement des paupières. Le onzième jour, *l'animal tourne la tête du côté de l'œil scarifié*, paraît malade. Il succombe le douzième jour. Cerveau stérile (ensemencements sur milieux habituels, aérobie et anaérobie). Altérations cérébrales et méningées caractéristiques (ces altérations sont localisées surtout à la base du cerveau). Un passage fait avec la matière cérébrale sur le *lapin* 68-*M* engendre l'encéphalite, après une incubation de six jours.

Cette expérience, répétée un très grand nombre de fois, et avec toutes nos souches de virus, a toujours fourni des résultats identiques. *Les animaux inoculés par la voie cornéenne ont présenté, entre vingt-quatre et quarante-huit heures, une pustule cornéenne accompagnée de conjonctivite purulente, et sont morts d'encéphalite six à treize jours après l'inoculation.*

C'est bien le virus de l'encéphalite qui engendre cette pustule cornéenne, et non pas les microbes saprophytes de la conjonctive qui ont pu souiller la plaie de la cornée scarifiée. En effet, *la même inoculation, pratiquée non plus avec du virus frais, mais avec une émulsion de cerveau chauffée à* 100°, *pendant dix minutes, reste sans effet*, comme le prouve l'expérience suivante :

Expérience. — Scarification de la cornée gauche du *lapin* 45-*M* avec une émulsion virulente chauffée pendant 10 minutes à 100°. Aucune lésion cornéenne. L'animal survit (1).

L'examen des frottis de la cornée, pratiqué chaque jour (coloration au Giemsa, après fixation à l'alcool, ou par le procédé de Schaudinn), montre, au début, de très nombreuses cellules épithéliales, dont quelques-unes offrent des inclusions ressemblant aux *corpuscules de Guarnieri*. Il s'agit de formations chromatiques incluses dans le protoplasma et situées

(1) Résultat identique avec le virus chauffé pendant une heure à 55°.

plus ou moins près du noyau. A ce moment, on décèle relativement peu de polynucléaires pseudo-éosinophiles, sans germes d'infection secondaire (staphylocoques), les premiers jours. Plus tard, les cellules épithéliales se raréfient; on constate une grande accumulation de polynucléaires, en partie nécrosés. Cette polynucléose locale coïncide avec une pullulation plus ou moins intense de germes banaux (cocci prenant le Gram ou petits bacilles Gram-négatifs).

Histologie pathologique (voy. pl. I, fig. 4 ; pl. II, fig. 5 et 9) : a) *Phase du début.* — Pendant les premiers jours, on observe des lésions presque exclusivement épithéliales. Le long des stries de scarification, les cellules de la couche basale montrent un noyau très vésiculeux, pauvre en chromatine et pourvu d'un nucléole volumineux, qui se colore d'une façon intense en rouge par la méthode de Mann. Autour de ce noyau vésiculeux se creuse une vacuole souvent disposée en demi-lune Le protoplasma des cellules épithéliales renferme des granulations chromatiques, teintes en bleu ou en rouge (coloration au safran-éosine-bleu de polychrome de Unna ; Mann). Certaines cellules sont dissociées par des leucocytes polynucléaires, qui se dirigent le long des espaces cellulaires, de la profondeur vers la surface. Enfin, sur certaines coupes, on décèle des figures de karyokynèse intéressant les cellules des couches épithéliales profondes.

b) *Phase tardive.* — Plus tard, l'épithélium desquame, principalement au centre de la cornée, en même temps qu'apparaissent des lésions de kératite interstitielle aiguë. Ces lésions consistent en une accumulation de polynucléaires, qui dissèquent les lames cornéennes et ne tardent pas à montrer des signes de dégénérescence. Il se forme, à la surface de l'ulcération, de véritables abcès miliaires, formés par des leucocytes, dont le noyau est réduit à l'état de grains chromatiques plus ou moins déformés. Les microbes d'infection secondaire se retrouvent précisément au niveau de ces petits abcès.

Cette inflammation aiguë à polynucléaires est remplacée, au niveau du *limbe*, par une réaction à éléments mononucléaires, lymphocytes, cellules plasmatiques et gros mononucléaires. Ces derniers renferment du pigment. On constate également

une ébauche de manchons périvasculaires dans les processus ciliaires, ainsi qu'un exsudat composé de polynucléaires et de gros mononucléaires pigmentophores, dans la chambre antérieure.

Quant à la conjonctive, elle est le siège d'une inflammation aiguë de la sous-muqueuse et d'altérations dégénératives de l'épithélium de recouvrement.

En somme *le virus provoque, au niveau de la cornée, des lésions qui ressemblent fort à celles engendrées par la vaccine.* L'analogie est d'autant plus frappante qu'il est possible de retrouver dans la pustule cornéenne encéphalitique non seulement des formations ressemblant au *Cytoryctes variolo-vaccinæ* de Guarnieri (corpuscules de Guarnieri), mais aussi les inclusions de Prowaczek (*chlamydozoaires*).

La réceptivité de la cornée des lapins à l'égard du germe de l'encéphalite, ainsi que la réaction locale inflammatoire déterminée par ce germe, permettent de le rapprocher du virus de la variole et de la vaccine. Nous verrons plus loin que d'autres faits accentuent encore cette analogie.

Transmission de l'encéphalite en série par inoculation cornéenne. Il est possible de transmettre l'encéphalite en série d'un lapin à l'autre, en prélevant le virus sur la cornée atteinte de kératite et en l'inoculant, par scarification, à la cornée d'un animal neuf.

Expérience. — Le *lapin G* est inoculé par scarification à la cornée. Il meurt d'encéphalite le neuvième jour, après avoir présenté une kératite intense (passage positif). *Cinq jours* après l'inoculation, alors que l'inflammation de la cornée était très apparente, on prélève, par raclage, l'exsudat de cette cornée, qu'on inocule par scarification cornéenne au *lapin* 20. Celui-ci présente une kératite le deuxième jour et meurt d'encéphalite le dixième jour (passage positif). Nouvelle infection en partant de l'œil du *lapin* 20, pratiquée sur la cornée du *lapin* 44. Celui-ci, atteint à son tour de kératite, succombe d'encéphalite le douzième jour. Un troisième passage reste négatif.

Cette expérience montre qu'il est possible de transmettre l'encéphalite en série, en utilisant exclusivement la cornée comme porte d'entrée. Dans certains cas, les passages s'arrêtent au bout de quelque temps. Mais si l'on utilise un virus plus actif et si l'on a soin de faire des passages dès le troisième ou le quatrième jour, la transmission en série peut être continuée

indéfiniment (voir plus loin : *virus salivaire de porteurs de germes*). Il semble que, passé ce délai de trois à quatre jours, la cornée s'appauvrisse en virus, probablement par suite de l'infection secondaire dont elle est le siège.

*
* *

6° Voie cutanée. — Différentes méthodes ont été employées pour préciser la réceptivité de la peau à l'égard du virus de l'encéphalite. Ce sont : *la scarification simple*, *l'injection intradermique* et *le procédé de Calmette-Guérin*.

a) *Scarification*. — Des expériences résumées dans notre premier Mémoire avaient montré qu'il était impossible de conférer la maladie au lapin et au cobaye par scarification cutanée. Il en est de même lorsqu'on expérimente sur le singe.

Expérience. — On scarifie la peau du bord labial du *Macacus cynomolgus* n° 10 et on dépose à la surface blessée du virus de passage. *Aucune lésion locale.*

b) *Injection intradermique*. — On inocule quelques gouttes de virus dans le derme du *lapin* 37-*M* (peau de l'abdomen et de l'oreille gauche). Même opération sur les *cobayes* 12 *et* 13. Les animaux survivent sans présenter de lésions locales ou de troubles généraux.

c) *Procédé de Calmette-Guérin*. — Des considérations que nous exposerons plus loin, nous ont conduits à penser que le germe de la maladie de v. Economo devait avoir quelque affinité pour le revêtement épithélial de la peau. Nous avons constaté, en effet : 1° *que l'inoculation du germe à la peau du lapin engendre des lésions locales;* 2° *que cette inoculation peut être suivie d'une infection généralisée, aboutissant à une encéphalite mortelle, transmissible en série.*

Expérience I. — *Virus fixe de passage*, d'origine cérébrale (Virus *C*). Une émulsion épaisse de cerveau est appliquée par badigeonnage sur la peau du *lapin* 4-*S*, par le procédé Calmette-Guérin (peau épilée, puis rasée, scarification à la pipette brisée, après lavage préalable à l'eau salée isotonique). Le surlendemain l'animal présente une légère irritation de la peau qui, les jours suivants, se recouvre de petites squames; le derme est légèrement infiltré. Çà et là, on constate de petites papules qui se recouvrent de croûtes rougeâtres. L'animal succombe le *onzième jour*. Culture du cerveau négative. *Examen histologique* : lésions d'encéphalite parenchymateuse et manchons périvasculaires, localisées surtout au niveau du mésocéphale; méningite à mononucléaires de la région basale du cerveau. Un passage cérébral est fait

sur le *lapin* 52-*S*, qui meurt d'encéphalite le troisième jour (deuxième passage positif, mort le cinquième jour).

Expérience II. — *Virus salivaire des porteurs* (1). Même dispositif expérimental appliqué au *lapin* 45-*S*. Le lendemain, on constate, sur la peau, des stries rouges qui, le surlendemain, sont surélevées, d'aspect papuleux, couvertes de squames. Ces lésions s'accentuent jusqu'au sixième jour. A ce moment, la croûtelle enlevée laisse voir une surface érodée et légèrement suintante. Le dixième jour, il existe une infiltration diffuse du derme. L'animal meurt le douzième jour d'encéphalite (méningite à mononucléaires, infiltration et neurophagie au niveau de la zone élective). Le cerveau du *lapin* 45-*S* sert à faire un passage intracranien sur le *lapin* 39-*E*, et une inoculation cutanée au *lapin* 37-*E*. Le lapin de passage meurt d'encéphalite le cinquième jour. Quant à l'animal infecté par voie cutanée, il offre les mêmes lésions que le *lapin* 45-*S* et succombe le douzième jour. Son cerveau est utilisé pour faire une troisième inoculation cutanée au *lapin* 92-*E*. Ce dernier offre de l'érythème papuleux et, le neuvième jour, présente des signes nets de *paralysie du train postérieur*; il meurt le onzième jour (2).

Le virus existe au niveau des lésions cutanées, ainsi que le prouve l'expérience suivante :

Expérience. — Sur le *lapin* 45-*S*, on prélève les *troisième et sixième* jours, au niveau des papules cutanées, un peu de sérosité obtenue après raclage. Cette sérosité est inoculée par scarification à la cornée droite (sérosité prélevée le troisième jour) et à la cornée gauche (sérosité prélevée le sixième jour) du *lapin* 72-*S*. Apparition de kératite bilatérale, qui guérit au bout de quelques jours. L'animal est malade le huitième jour, et succombe d'encéphalite le neuvième jour.

Il résulte de ces recherches que l'*inoculation du virus encéphalitique à la peau provoque des lésions cutanées, caractérisées par une dermite papulo-squameuse contenant le virus de la maladie. Cette inoculation est suivie d'une localisation du germe dans l'axe cérébro-spinal, déterminant la mort de l'animal par l'encéphalite*. Il est intéressant de rapprocher ces résultats positifs de ceux qui démontrent l'innocuité de ce germe introduit dans le tissu cellulaire sous-cutané, ou dans le derme lui-même, chez le lapin ou le cobaye. *C'est là une des preuves de l'affinité ectodermique dont le virus encéphalitique est doué.*

Nous avons montré dans notre premier Mémoire que le virus chemine le long des nerfs. Il est vraisemblable d'admettre qu'après avoir pullulé au niveau de l'épiderme, le microbe envahit les terminaisons nerveuses de la peau et emprunte la

(1) Voir pour la nature et les caractères de ce virus le chapitre VIII.
(2) Plusieurs autres passages ont été effectués depuis.

voie des nerfs rachidiens centripètes pour atteindre le système nerveux central. Le fait que certains de nos animaux, inoculés à la peau, sont morts avec des symptômes de paralysie du train postérieur, semble plaider en faveur de cette marche du germe du revêtement cutané vers la moelle épinière, le long des nerfs spinaux.

Conclusions. — *Le virus encéphalitique est pathogène pour le lapin par la voie intramusculaire, intrapéritonéale et conjonctivale (après lésion de la muqueuse). Il engendre une pustule cornéenne, accompagnée de kérato-conjonctivite et suivie d'encéphalite. La maladie peut être transmise en série par passage de cornée à cornée. Le germe offre une affinité marquée pour l'épithélium cutané (ectoderme).*

VII. — Virulence des humeurs et des organes.

a) Virulence du sang. — Nous avons montré, l'an dernier, qu'il était impossible de déceler le virus encéphalitique dans le sang circulant chez les animaux sacrifiés en pleine infection. Nous avons répété depuis ces expériences et, poussant l'analyse plus loin, nous avons obtenu les mêmes résultats négatifs, ainsi qu'il résulte du protocole suivant :

Expérience. — Le *lapin* 40-*B*, inoculé dans le cerveau, est très malade le cinquième jour. On recueille le sang de la *veine jugulaire* par ponction et aspiration à la seringue, et le *sang carotidien*, par le procédé de la saignée habituelle. Le sang est citraté, puis centrifugé. On recueille séparément le sérum du sang artériel (après coagulation), les leucocytes et les hématies du sang veineux et artériel, et on les injecte à des lapins par voie cérébrale (0 c. c. 2) :

Leucocytes du sang veineux	*Lapin* 52-B, *survit.*
— — *artériel*	— 55-B, —
Hématies du sang veineux	— 53-B, —
— — *artériel*	— 54-B, —
Sérum sang carotidien	— 59-B, —

Cette expérience complète les précédentes et montre *que le virus ne peut être décelé ni dans le sang total, ni dans les divers éléments constitutifs du sang artériel ou du sang veineux* (provenant directement du cerveau).

b) Virulence des ganglions rachidiens. — Il a été démontré (Levaditi et Harvier) que chez les lapins infectés par voie céré-

brale, *la moelle épinière* contient le virus; en est-il de même des *ganglions intervertébraux ?*

Expérience. — On prélève trois ganglions spinaux (région lombaire) chez le *lapin* 83-*M*, mort d'encéphalite par infection cérébrale. Ils sont triturés, puis injectés dans le cerveau du *lapin* 40-*M*. Celui-ci survit.

Il ne semble donc pas que le germe existe en quantité appréciable dans les ganglions spinaux (on sait que ces ganglions sont constamment virulents dans la rage et la poliomyélite expérimentales).

c) Virulence des ganglions lymphatiques. — Le virus de la poliomyélite a pu être décelé dans les ganglions lymphatiques des singes infectés expérimentalement (Leiner et Wiesner), ainsi que dans l'amygdale d'un enfant mort de poliomyélite, chez lequel la maladie s'était accompagnée d'angine (Levaditi et Landsteiner). Peut-on retrouver le germe de l'encéphalite dans les ganglions lymphatiques? L'expérience suivante montre que non :

Expérience. — Le *lapin* 49 est sacrifié à la période préagonique d'une encéphalite provoquée par injection de virus dans le cerveau. On prélève quelques fragments de ganglions mésentériques, que l'on place dans de la glycérine stérilisée; ils servent à faire une émulsion que l'on injecte dans le cerveau du *lapin* 7-4 ; celui-ci survit, sans avoir présenté de troubles apparents.

d) Virulence des glandes salivaires. — A la suite de nos premières expériences, nous avons conclu dans notre précédent Mémoire que « *les glandes salivaires ne jouent pas un rôle important ni comme porte d'entrée, ni comme voie d'élimination du germe de l'encéphalite* ». Cette conclusion était en contradiction avec celle que Netter s'était cru autorisé à formuler, en se basant sur de simples analogies. Nous n'avions aucun intérêt à soutenir la thèse contraire, si nos expériences ne nous y obligeaient pas. Quelles que soient les analogies entre le virus de l'encéphalite et celui de la rage, analogies sur lesquelles Netter a insisté dans sa conférence au Corps médical des domaines de la Sarre (1), elles ne suffisent pas pour affirmer l'existence du microbe de la maladie de v. Eco-

(1) Netter. *La Presse Médicale*, 1920, n° 20, 7 avril, p. 193.

nomo dans la glande salivaire ou dans la salive ; la confirmation expérimentale est nécessaire.

Or, voici que Netter, Cézari et Durand (1) apportent cette confirmation, en publiant des expériences faites avec un virus encéphalique d'origine cérébrale humaine, où l'on voit que par trois fois successivement, les glandes salivaires des lapins infectés par voie cérébrale se sont montrées virulentes pour d'autres animaux neufs (après filtration à travers une bougie Berkefeld V).

Nous avions fait antérieurement des expériences sur ce sujet, avec d'autant plus d'intérêt que l'un de nous, en collaboration avec Landsteiner (2), avait pu déceler le virus poliomyélitique dans la glande salivaire d'un singe infecté. Or *tous les résultats obtenus ont été constamment négatifs*. Netter nous ayant objecté que nous n'avions réalisé, contrairement à nos habitudes, qu'une seule expérience, nous avons apporté à la *Société de Biologie* une nouvelle série de recherches entreprises depuis la publication de sa note, et qui prouvent que ses conclusions sur la présence du virus dans les glandes salivaires sont, pour le moins, difficiles à confirmer.

Ces expériences sont au nombre de *huit*. Nous avons utilisé trois variétés de virus, ayant subi, tous trois, un nombre de passages importants : un virus *AC*, d'origine salivaire (quatre expériences), un virus *Ch.* provenant de sécrétions naso-pharyngées d'une malade (deux essais), notre virus fixe *C*, d'origine cérébrale. Nous avons relaté les détails de ces expériences dans une note spéciale (3); nous ne citerons ici que les deux premiers essais :

Expérience I. — 25 mai 1921. *Lapin* 85-*O*, inoculé par voie cérébrale avec le virus *AC*, mort d'encéphalite le quatrième jour. Lésions caractéristiques. Les glandes salivaires sous-maxillaire et parotides sont triturées et émulsionnées. L'émulsion, *non filtrée*, est inoculée dans le cerveau du *lapin* 5-*B* ; l'animal est vivant le trente-cinquième jour.

Expérience II. — 25 mai 1921. *Lapin* 90-*O* inoculé par voie cérébrale avec le virus *AC*, mort le troisième jour (lésions typiques). Inoculation cérébrale des

(1) Netter, Cézari et Durand. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 14 mars 1921, **84**, p. 854.

(2) Landsteiner et Levaditi. Ces *Annales*, **24**, 1910, p. 833.

(3) Levaditi, Harvier et Nicolau. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **85**, 1921, n° 24, p. 195.

glandes salivaires dans le cerveau du *lapin* 7-*B*. L'animal meurt le vingt-septième jour, mais d'infection secondaire et non d'encéphalite. Cultures du cerveau et du sang du cœur : positives. Son passage, *lapin* 43-*S*, meurt de méningite microbienne le lendemain.

Six autres expériences, disposées de façon identique, avec les virus *C*. *Ch* et *Ac*, sont restées également négatives.

Ces faits nouveaux, joints à ceux relatés antérieurement, nous permettent de répéter *qu'il nous a été impossible de déceler le virus de l'encéphalite dans les glandes salivaires des lapins inoculés par voie cérébrale ou oculaire.*

Conclusions. — *Le germe encéphalitique n'a pu être retrouvé ni dans le sang (leucocytes, hématies, sérum), ni dans les ganglions rachidiens ou lymphatiques, ni dans les glandes salivaires des animaux infectés expérimentalement.*

VIII. — Mode de propagation de la maladie. Présence du virus encéphalitique dans la salive normale. Porteurs sains de germes.

Les recherches de Strauss, Hirshfeld et Loewe (1) avaient prouvé que le virus de l'encéphalite pouvait être décelé dans les sécrétions naso-pharyngées des malades. Forts de ces données, auxquelles nous avons ajouté la démonstration expérimentale de la transmissibilité de l'infection par la muqueuse nasale préalablement altérée, nous avons conclu dans notre premier Mémoire que : *le naso-pharynx constitue pour l'encéphalite, comme pour la poliomyélite, la principale, sinon l'unique source de contagion, par conséquent, le foyer microbien qu'il faut éteindre, si l'on désire réaliser une prophylaxie efficace.*

A cette question du rôle du naso-pharynx comme réceptacle de virus, se rattache intimement celle des *porteurs de germes*. L'analogie entre la maladie de Heine-Medin et celle de v. Economo est si frappante que, dès les premières études concernant cette dernière maladie, on pouvait prévoir que la belle découverte, faite par Wickman dans le domaine de la poliomyélite, trouverait son application dans celui de l'encéphalite.

(1) Strauss, Hirshfeld et Loewe. *New York med. Journ.*, 3 mai 1919, p. 772; *Journ. of infect. Diseases*, novembre 1919, p. 370.

Les formes frustes, et surtout les porteurs sains, devaient assurer, dans la grande majorité des cas, l'extension épidémique de l'infection. L'hypothèse fut nettement formulée par Netter (1), qui chercha à l'étayer sur les analogies auxquelles nous faisons allusion plus haut, et aussi sur des observations cliniques. Quoique ces observations (au nombre de trois) soient loin d'être probantes, car elles ont été recueillies dans des milieux urbains, où les modes de contagion sont multiples et complexes (2), elles n'en constituent pas moins l'unique présomption en faveur de l'existence des porteurs de germes encéphalitiques, avant le fait précis dont il sera question dans ce chapitre.

Dès mai 1920, Levaditi, Brouardel et Forestier (3) s'exprimaient ainsi à propos d'un cas d'encéphalite myoclonique de forme atypique (*fruste*) examiné par eux :

« Nous sommes enclins à admettre que chez l'homme l'encéphalite est, en réalité, une infection généralisée, due à un virus dont la localisation sur le système nerveux central n'est pas forcément obligatoire. Nous croyons qu'il y a lieu d'envisager l'existence de *formes de transition* entre les cas où le névraxe n'est pas touché et ceux où les manifestations pédonculaires sont intenses. L'observation étudiée par nous est un exemple de ces types morbides où les phénomènes infectieux, septicémiques, l'emportent sur les troubles nerveux. Ceci n'est pas sans offrir des analogies avec ce qui se passe dans la poliomyélite, où les enquêtes épidémiologiques montrent que dans certaines familles apparaissent, à côté des formes typiques de paralysie infantile, une méningite sans atteinte des centres nerveux, ou une simple poussée fébrile avec ou sans troubles gastro-intestinaux (cas abortif de Wickman). Dans l'encéphalite léthargique, comme dans la maladie de Heine-Medin, ce sont très probablement ces formes abortives (pseudo-grippales), plus ou moins septicémiques (et aussi *les*

(1) Netter, Rapport sur l'étiologie et la prophylaxie de l'encéphalite léthargique. *Bull. de l'Acad. de Méd.*, séance du 8 mars et du 12 avril 1921.

(2) Cette objection ne saurait s'adresser aux constatations faites par Wickman au cours des épidémies de poliomyélite qui sévissaient en Suède ; elles avaient été recueillies dans les petites paroisses suédoises, dans des conditions qui comportaient une précision vraiment admirable.

(3) Brouardel, Levaditi et Forestier. *Soc. méd. des Hôp.*, séance du 5 mai 1920.

sujets bien portants, porteurs de germes) qui assurent la diffusion de la maladie. »

Cette manière d'envisager la propagation de l'encéphalite a été récemment admise et démontrée par Kling (1).

Cet auteur vient d'entreprendre une enquête épidémiologique dans la province de Wilhelmine, sise à l'extrême nord de la Suède (Laponie). Profitant de la grande morbidité de l'encéphalite dans cette province, ainsi que de la situation géographique propice, il établit que l'extension de l'infection, qui s'est effectuée avec une grande rapidité (en deux mois), fut assurée surtout par les formes frustes, et très probablement aussi par les porteurs de germes. Ces formes frustes étaient des cas d'affections catarrhales avec fièvre, maux de tête, douleurs rhumatoïdes sans symptômes cérébraux, et des troubles gastro-intestinaux.

La même opinion fut partagée par Dopter (2), qui a enregistré une observation analogue, et par Achard (3).

Tel était l'état de la question des porteurs de germes lorsque, dans une note présentée à la *Société de Biologie* (4), le 7 mai 1921, nous annoncions la découverte, dans la salive de sujets absolument bien portants et n'ayant jamais eu d'encéphalite, d'un virus absolument identique à celui de la maladie de v. Economo. La démonstration expérimentale de l'existence de porteurs sains de germes était ainsi donnée. Nous consacrons le présent chapitre à l'étude de cette question.

a) *Virus salivaire kératogène.*

L'inoculation par scarification de la cornée du lapin, de salive provenant de sujets sains, n'ayant jamais eu d'encéphalite, reste sans effet, ou bien engendre une kérato-conjonctivite comparable à celle provoquée par le virus encéphalitique d'origine cérébrale.

Expérience I. — Le 2 mai 1921, on inocule par scarification à la cornée droite

(1) Kling, Davide et Liljenquist. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1921, **84**, p. 521.
(2) Dopter, Discussion à propos de la note de Kling. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1921, **84**, p. 523 ; *Acad. de Méd.*, séance d'avril 1921.
(3) Achard, Même discussion.
(4) Levaditi, Harvier et Nicolau. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1921, **84**, p. 817.

(badigeonnage avec un tampon imbibé de salive mixte fraîche), *les lapins* 80-*A*, 82-*A et* 84-*A*.

Le premier reçoit la salive de *Li*..., le second celle de *Ma*..., le troisième la salive de *Ni*..., tous sujets bien portants, âgés de trente-huit ans, de dix-sept ans et de vingt-six ans, n'ayant jamais eu d'encéphalite. *Aucune réaction locale les jours suivants.*

Expérience II. — *Type de salive kératogène. — Le lapin* 41-*O* est inoculé de la même manière avec la salive de *Ac*, sujet bien portant, n'ayant jamais eu d'encéphalite, mais *ayant été en contact à plusieurs reprises avec des encéphalitiques.* Déjà le lendemain, on constate une opacité de la cornée le long des stries de scarification et une légère sécrétion conjonctivale. Kératite généralisée le surlendemain, qui s'accentue de plus en plus. La cornée s'ulcère le treizième jour (suppuration du sac conjonctival, œil collé). Le vingt-troisième jour les phénomènes aigus rétrocèdent. La cornée se vascularise. Guérison presque complète le trente-septième jour. L'animal survit, sans montrer de troubles indiquant une généralisation quelconque de la maladie.

26 inoculations semblables ont été pratiquées par nous avec des salives provenant de sujets bien portants appartenant à des milieux divers (hôpital, laboratoire, familles). Ces sujets ont été au nombre de 13. De ces 26 inoculations, 5 sont restées totalement négatives, 21 ont été suivies de kérato-conjonctivites plus ou moins accentuées, ce qui donne *un pourcentage de* 80 *p.* 100 comme résultats positifs.

Ces expériences prouvent que *certaines salives mixtes, provenant de sujets sains, engendrent chez le lapin une pustule de la cornée, accompagnée de kérato-conjonctivite, absolument semblable macroscopiquement et microscopiquement à la pustule cornéenne encéphalitique.*

*
* *

Quelle est la nature de ce virus salivaire kératogène ?

L'action kératogène de la salive n'est pas due aux divers microbes cultivables que renferme cette salive.

Expérience. — Les salives de *La*... et de *Is*... sont cultivées sur gélose inclinée, sur bouillon et sur gélose de Veillon. L'examen des cultures, pratiquée quarante-huit heures après, décèle la présence de staphylocoques, de streptocoques, du *Micrococcus catarrhalis* et de diplocoques prenant le Gram. Chacune des salives est inoculée à la cornée d'un lapin : l'inoculation est suivie de kérato-conjonctivite. D'autre part, on fait un mélange de cultures, pour chaque cas, et on l'inocule par le même procédé à la cornée des *lapins* 10-*O et* 3-*O* : *légère conjonctivite et irritation de l'œil, mais absence de toute trace de kératite.*

Cette action kératogène n'est pas attribuable non plus aux spirilles, ni aux spirochètes de la bouche. En effet, ni l'examen des frottis (à l'ultra-microscope et après une coloration au Giemsa), ni celui des coupes de cornée imprégnées à l'argent, n'ont révélé la présence de *spirilles* ou de *spirochètes*, quel que soit le moment où cet examen ait été pratiqué.

La kératite salivaire est provoquée par un virus qui se conserve dans la glycérine et filtre à travers les bougies en porcelaine.

Expérience. — *a*) **Conservation dans la glycérine**. Salive de *Ac*, centrifugée fortement. Le liquide clair surnageant est dilué de moitié avec de la glycérine au tiers. Le dépôt de centrifugation, qui contient *de nombreuses cellules épithéliales de la bouche, de rares leucocytes, des microbes variés et des spirilles*, est suspendu dans 3 cent. cubes de glycérine au tiers. Les deux mélanges sont conservés pendant *trois jours* à la glacière. A ce moment, le *lapin* 23-*Oc* est inoculé à la cornée, avec le dépôt de centrifugation, le *lapin* 19-*Oc* avec le liquide surnageant. Le premier montre une véritable kératite légère, qui guérit le sixième jour; le second fait de la kérato-conjonctivite, qui disparaît sans laisser de traces, le neuvième jour.

b) **Filtrabilité**. — Salive mixte de *La*... Une partie est inoculée telle que, à la cornée du *lapin* 76-*M*: kératite intense. Une autre partie est diluée de moitié avec de l'eau salée et fortement centrifugée. Le liquide surnageant est centrifugée à nouveau, puis filtré sur bougie Chamberland 1 (filtrat stérile). Le filtrat est inoculé par scarification à la cornée du *lapin* 100-*Ac*. Le lendemain, kératite centrale et conjonctivite ; la lésion s'accentue le deuxième jour (suppuration), la cornée s'ulcère, puis se vascularise. Guérison presque complète le vingtième jour.

Même résultat dans une seconde expérience, disposée de la même manière, avec la salive de *Ac*.

Le virus ne provient pas de la salive même, sécrétée par la *glande salivaire*, ainsi que le prouve l'expérience suivante :

Expérience. — **Cathétérisme du canal de Sténon**. On cathétérise, à l'aide d'une petite sonde souple, le canal de Sténon chez *Ac*..., sujet bien portant. On obtient ainsi une petite quantité de salive claire, que l'on cueille aseptiquement. Elle sert à scarifier la cornée droite du *lapin* 100-*O*. La salive mixte du même sujet, contenant des cellules épithéliales de la bouche, de rares leucocytes et des bactéries, est employée à scarifier la cornée droite du *lapin* 99-*O*. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant (voir p. 101).

Cette expérience montre que le *virus salivaire kératogène existe dans la salive mixte* (*qui renferme en plus de la sécrétion des glandes salivaires, des cellules épithéliales buccales, de rares leucocytes, des microbes et des spirochètes*), *et non pas dans la salive obtenue directement de la parotide, par cathétérisme du canal de Sténon.*

DATES	SALIVE MIXTE — LAPIN 99-0, inoculation le 24 ma 1921	SALIVE OBTENUE PAR CATHÉTÉRISME — LAPIN 100-O, inoculation le 24 mai 1921
25 mai.	Légère sécrétion	Aucune réaction locale.
26 —	Kératite ++++, sécrétion, pus.	Id.
29 —	Kératite ++++, suppuration. .	Id.
2 juin.	Id.	Id.
5 —	Id.	Id.
7 —	Id.	Id.

Ce virus paraît vivre au contact des éléments figurés de la salive totale, principalement des épithéliums de la bouche, qui constituent la grande majorité de ces éléments. En effet, lorsqu'on centrifuge fortement la salive mixte, et que l'on recueille le dépôt de centrifugation, on constate que ce dépôt est aussi virulent que la salive totale, même *après lavage préalable*.

Expérience. — *Salive de La...* centrifugée longuement. Le dépôt de centrifugation contient de très nombreuses cellules épithéliales plates, des bactéries (staphylocoques, streptocoques), des spirilles et des spirochètes; *il ne contient pas de leucocytes*. Lavage du dépôt à l'eau salée isotonique et nouvelle centrifugation. Le dépôt est inoculé par scarification à la cornée du *lapin* 97-*M*. Kérato-conjonctivite dès le lendemain. Le troisième jour, kératite intense, suppuration du sac conjonctival. Pustule cornéenne le neuvième jour. La cornée se vascularise le vingtième jour. L'animal survit.

Cette expérience, répétée à plusieurs reprises, a toujours fourni le même résultat.

(*A suivre.*)

LÉGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

Fig. 1, A à K. — *Neurocorps encéphalitiques.* Cerveau de lapin « *zone élective* ». — Fig. A : *p*, protoplasma de la cellule nerveuse ; *m*, noyau de mononucléaire ; *n*, noyau de la cellule nerveuse ; *e*, corpuscule entouré d'une vacuole claire. — Fig. B : *n*, noyau de la cellule nerveuse ; *p*, protoplasma ; *e*, neurocorps, entouré d'un halo clair. — Fig. C : *p*, protoplasma ; *n*, noyau ; *e*, petits neurocorps — Fig. D : *p*, protoplasma, contenant un neurocorps *co* ; *n*, noyau ; *c*, neurocorps. — Fig. E : *p*, protoplasma ; *n*, noyau ; *e*, très gros neurocorps, entouré d'un halo clair ; *co*, neurocorps plus petit. — Fig. F : *p*, protoplasma ; *n*, noyau ; *c*, neurocorps paraissant offrir une structure interne ; *co*, neurocorps en bissac. — Fig. G : *p*, protoplasma ; *n*, noyau ; *e*, neurocorps volumineux, à structure aréolaire ; *co*, petit neurocorps. — Fig. H : *p*, protoplasma ; *n*, noyau ; *g*, petits neurocorps. — Fig. I : *p*, protoplasma ; *n*, noyau ; *co*, neurocorps foncé ; *cr*, petits neurocorps. — Fig. J : *p*, protoplasma ; *n*, noyau ; *co*, neurocorps volumineux ; *cr*, double neurocorps contenu dans une vacuole. — Fig. K : *p*, protoplasma ; *n*, noyau : *cr*, neurocorps volumineux ; *co*, tout petit neurocorps.

Coloration au Mann. Gross. : 1/1.000.

Fig. 2. — *Coupe de cerveau du* **lapin 18-B** ; *virus encéphalitique et anesthésie au chloral* ; *po*, polynucléaire karyolysé dans un foyer d'encéphalite ; *v*, vaisseau contenant des hématies (*h*) et entouré d'un manchon périvasculaire à mononucléaires (*n*) et polynucléaires (*p*).

Coloration au bleu de polychrome-éosine-orange. Gross. : 600/1.

Fig. 3. — *Coupe de cerveau du* **lapin 51-Ac**, *mort d'encéphalite provoquée par le virus salivaire du porteur Ac* ; *m*, pie-mère infiltrée par des mononucléaires ; *v*, vaisseau entouré d'un manchon périvasculaire ; *e*, petit foyer d'encéphalite.

Coloration à l'hématoxiline-éosine-orange. Gross. : 100/1.

Fig. 4. — *Coupe de cornée atteinte de kératite encéphalitique* ; *e*, épithélium de surface, avec noyaux allongés (*r*) dont les nucléoles (*s*) sont colorés en rouge ; *co*, *cv*, cellule épithéliale avec noyau *n* entouré d'une vacuole et dont les nucléoles sont teintes en rouge.

Coloration au Mann. Gross. : 1.000/1.

Fig. 5. — *Coupe de cerveau du* **lapin 18-B** : *virus encéphalitique et anesthésie au chloral* ; *h*, hémisphères cérébraux ; *m*, *s*, méninges infiltrées par des polynucléaires ; *v*, vaisseau.

Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gross. : 40/1.

Fig. 6. — *Encéphalite à polynucléaires chez le* **lapin 82-B**, *mort le troisième jour* ; *m*, méninges infiltrées par des polynucléaires en grande partie karyolysés ; *v*, vaisseau ; *c*, substance cérébrale montrant un foyer d'encéphalite aiguë ; *p*, polynucléaire.

Fig. 7. — *Coupe de cerveau du* **lapin 82-B**, *mort d'encéphalite précoce* (le quatrième jour) ; *me*, méninges envahies par les polynucléaires ; *v*, vaisseau ; *c*, cortex cérébral ; *m*, vaisseau cérébral entouré de manchon périvasculaire.
Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gross. : 45/1.

Fig. 8. — *Coupe de cerveau du* **lapin 11-M**. *Lésions cellulaires de la zone élective* ; *c*, cellule nerveuse à noyau altéré ; *n*, amas de polynucléaires karyolysés autour d'une cellule nerveuse (*neuronophagie*) ; *k*, polynucléaire.

Fig. 9. — *Coupe de cerveau du* **lapin 11-M**. *Lésions cellulaires de la zone élective* ; *c*, cellule nerveuse à noyau altéré ; *n*, cellule nerveuse envahie par les polynucléaires ; *k*, polynucléaire à noyau karyolysé ; *p*, polynucléaire.

Fig. 10. — *Coupe du cerveau du* **lapin 11-M**. *Lésions cellulaires de la zone élective* ; *c*, cellule nerveuse à noyau altéré ; *p*, polynucléaires dans l'espace péricellulaire.
Coloration au bleu de Unna-éosine-safran. Gross. : 520/1.

Fig. 11. — *Coupe de cerveau du* **lapin 11-M** (inoculation intracérébrale) ; *m*, méninge ; *c*, cerveau ; *v*, vaisseau ; *p*, encéphalite à polynucléaires ; *ze*, zone élective.
Coloration au bleu de Unna-éosine-safran. Gross. : 35/1.

PLANCHE II

Fig. 1. — *Coupe de cerveau du* **lapin 24-Bc** (*vaccine cérébrale*) ; *s*, méninges du septum ; *v*, vaisseau ; *c*, cerveau ; *m*, vaisseau cérébral entouré d'un manchon.
Coloration à l'hématéine-éosine. Gross. : 50/1.

Fig. 2. — *Coupe de cerveau du* **lapin 24-Bc** (*vaccine cérébrale*) ; *m*, pie-mère infiltrée par des mononucléaires, *c*, cerveau ; *v*, vaisseau ; *i*, infiltration mononucléaire des méninges.
Même coloration, même grossissement.

Fig. 3. — *Kératite salivaire chez le* **lapin 51-Ac**. *Coupe de cornée* ; *c*, épithélium de recouvrement ; *i*, infiltration de la cornée par des polynucléaires ; *e*, exsudat dans la chambre antérieure (*ch*) ; *p*, processus ciliaire.
Même coloration. Gross. : 45/1.

Fig. 4. — *Lésions des méninges dans la vaccine cérébrale* (**lapin 50-Bc**) ; *c*, cortex cérébral ; *p*, polynucléaire ; *v*, vaisseau cortical entouré d'un manchon à mononucléaires ; *l*, *m*, méningite à mononucléaire ; *e*, cellules mononucléaires à protoplasma granuleux et vacuolaire (*o*), situées à la limite entre la pie-mère et l'écorce cérébrale.
Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gross. : 600/1.

Fig. 5. — *Kératite salivaire* (*virus du porteur Ac*), **lapin 51-Ac** ; *e.* épithélium de surface; *p*, polynucléaire; *c*, cellule épithéliale dont le noyau, en semi-lune, est limité par une vacuole protoplasmique; *k*, cellule épithéliale en karyokynèse.

Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gross. : 700/1.

Fig. 6. — *Dure-mère de vaccine cérébrale* (**lapin 24-Bc**) ; *co*, tissu conjonctif contenant une *cellule géante* (*c*) avec de multiples noyaux (*n*).

Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gross.: 550/1.

Fig. 7. — *Coupe de méninge. Vaccine cérébrale* (**lapin 50-Bc**); *v*, vaisseau ; *m*, gros mononucléaire ; *n*, noyau de gros mononucléaire, avec *no*, nucléole.

Coloration au Mann. Gross. : 600/1.

Fig. 8. — *Coupe de cerveau du* **lapin 18-B** : *virus encéphalitique et anesthésie au chloral*; *v*, vaisseau ; *c*, substance cérébrale ; *s*, septum, avec *k*, infiltration par des polynucléaires à noyaux karyolysés ; *m*, infiltration par des mononucléaires.

Coloration au bleu de Unna-éosine-safran. Gross. : 600/1.

Fig. 9. — *Kératite encéphalitique* (**lapin 32-O**) ; *i*, infiltration par des polynucléaires et ulcération de la cornée ; *v*, vaisseau ; *m*, lames cornéennes avec infiltration à mononucléaires.

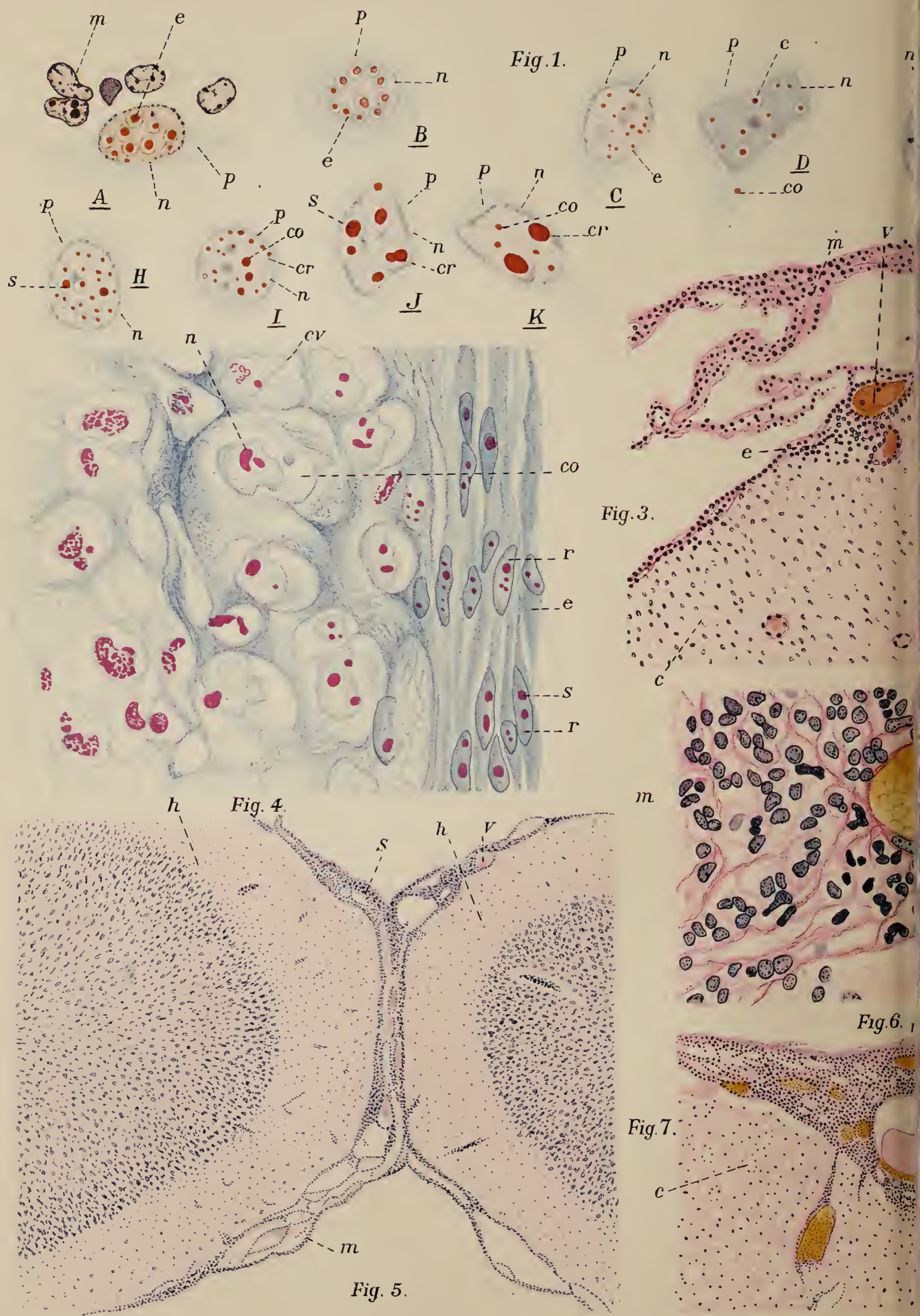
Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gross. : 100/1.

Fig. 10. — *Lésions de la dure-mère*; *vaccine cérébrale* (**lapin 24-Bc**); *c*, cortex cérébral; *d*, dure-mère; *a*, infiltration de la dure-mère au voisinage de la pie-mère ; *h*, foyers hémorragiques.

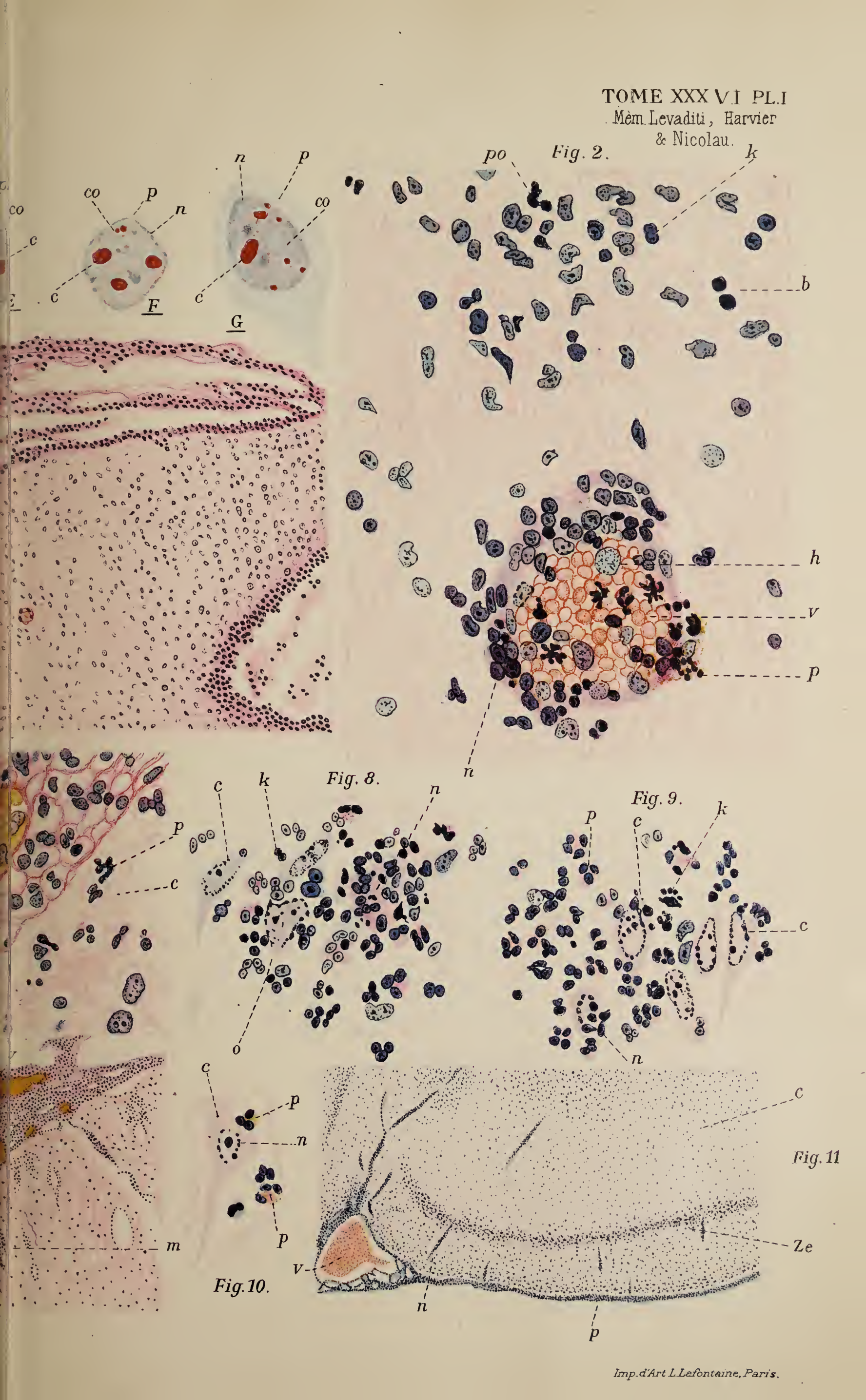
Coloration à l'hématoxyline-éosine. Gross. : 80/1.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.



Constantin, del & lith.



Imp. d'Art L. Lefontaine, Paris.

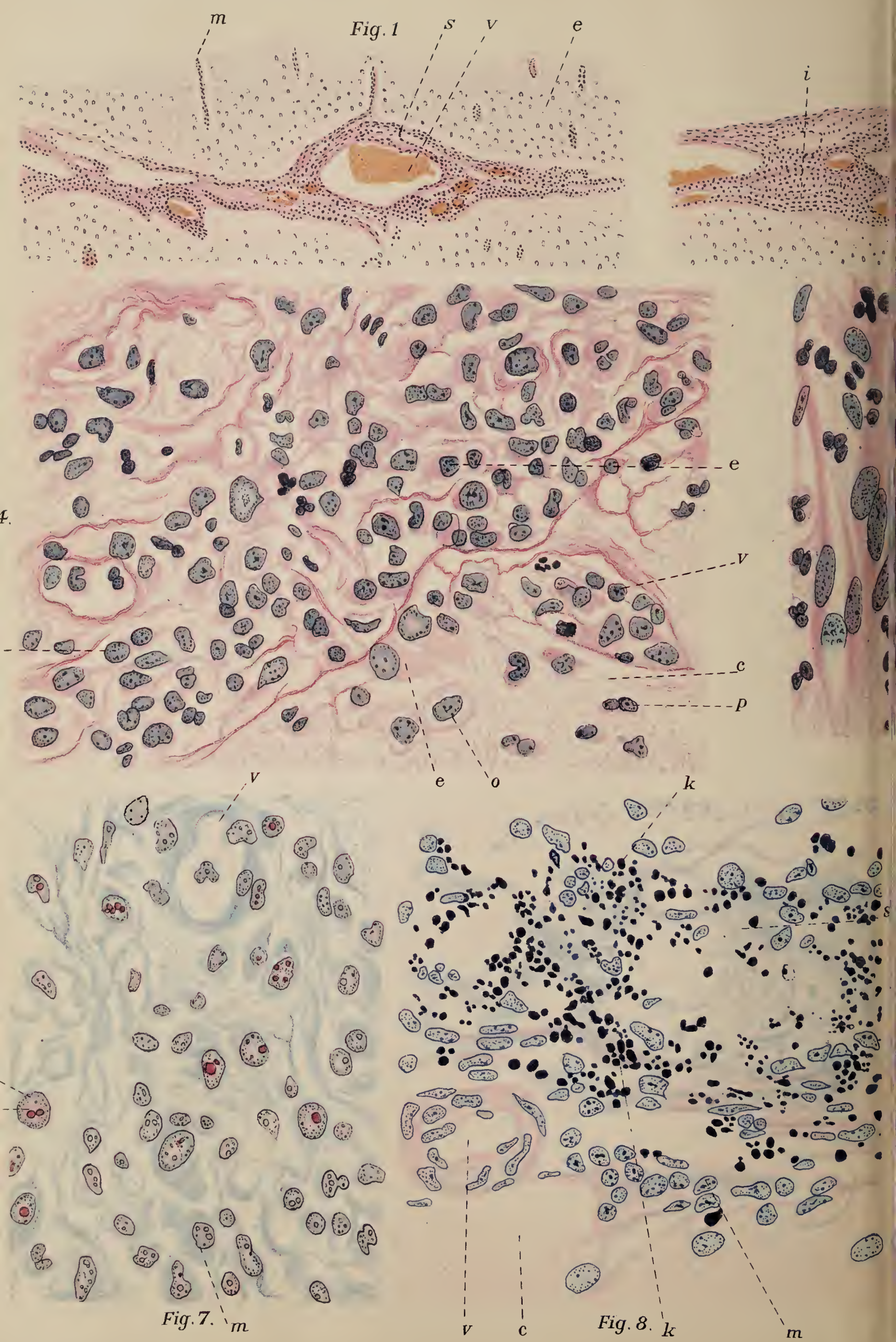


Fig. 7.

Fig. 8.

Constantin, del & lith.

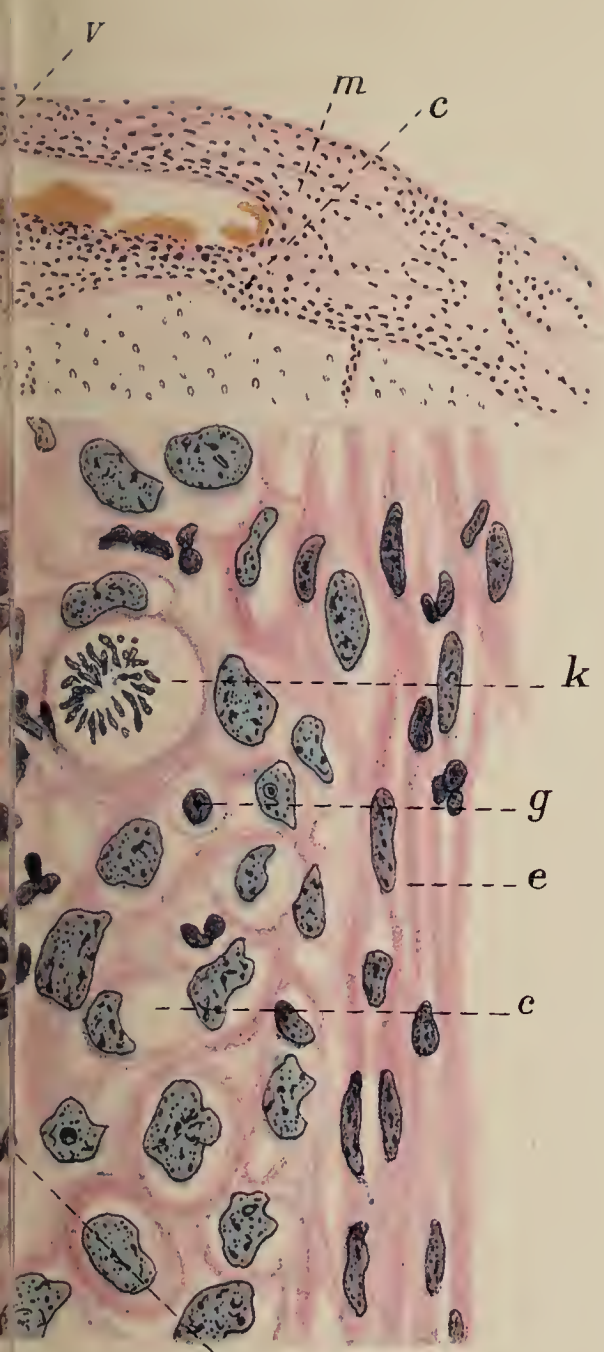


Fig. 5.

Fig. 3.

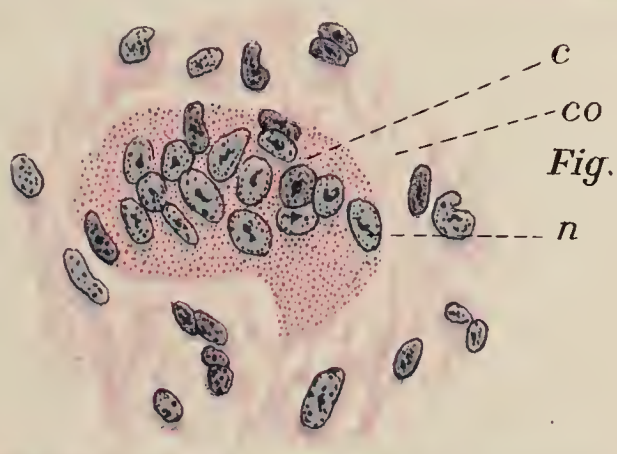


Fig. 6.

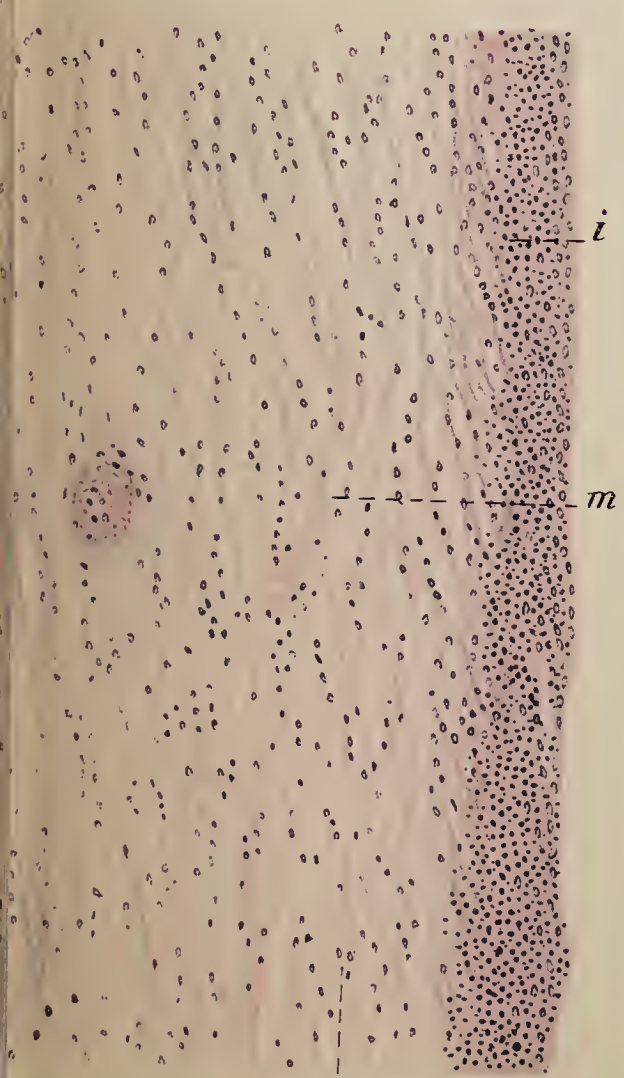


Fig. 9.

Fig. 10.

Imp. d'Art L. Lafontaine, Paris.

36e ANNÉE FÉVRIER 1922 N° 2

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ENCÉPHALITE DITE « LÉTHARGIQUE »

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

(*Suite.*)

par C. LEVADITI, P. HARVIER et S. NICOLAU.

Il résulte de ces recherches que le virus salivaire kératogène n'a aucun rapport avec les microbes de la bouche. Il s'agit d'un germe filtrant, qui se conserve dans la glycérine et qui ne provient pas de la sécrétion des glandes salivaires. Tout porte à croire que *ce virus est un saprophyte de la bouche, où il vit au contact des éléments épithéliaux de la salive, éléments qui proviennent de la desquamation de la muqueuse buccale. Il est très probable qu'il représente un parasite obligatoire de ces éléments épithéliaux.*

La virulence de ce germe filtrant est inégale; elle varie d'une salive à l'autre. Certains échantillons salivaires engendrent une kératite légère, guérissant en quelques jours, tandis que d'autres provoquent une pustule térébrante de longue durée.

Il nous a été impossible de réaliser indéfiniment des passages de cornée à cornée avec ce virus; ces passages s'arrêtent d'autant plus vite que la virulence est plus atténuée, ainsi qu'il résulte des expériences suivantes :

Expérience. — a) *Salive de Is...* Inoculation à la cornée droite du *lapin* 51-*O*. Opacité cornéenne, dès le lendemain; kératite intense le sixième jour. La

cornée se vascularise le *onzième* jour et se perfore le dix-huitième. *Le dix-huitième jour*, on pratique un passage de cornée à cornée sur le *lapin* 47-*B*. Aucune réaction locale.

b) *Salive de La...* Inoculation à la cornée du *lapin* 76-*M*. Kératite intense ayant débuté le lendemain. Un certain nombre de passages ont été pratiqués en partant de cette kératite; en voici l'évolution :

	Lapin	Durée
1re *Inoculation*	76-M. Kératite térébrante	42 *jours*.
1er *passage* (fait le 6e *jour*).	36-O. Kératite térébrante	56 —
2e *passage* (du précédent, fait le 4e *jour*).	55-O. Kératite moyenne .	10 —
3e *passage* (du précédent, fait le 6e *jour*).	86-O. Kératite légère. . .	7 —

Ces essais montrent que *la kératite ne peut être transmise indéfiniment en série de cornée à cornée* ; au fur et à mesure des passages, les lésions diminuent d'intensité, évoluent d'une façon plus rapide et guérissent plus vite. Tout se passe comme si le germe, de virulence atténuée, s'épuisait avec le temps.

La salive n'est pas la seule à engendrer des lésions vésiculo-pustuleuses de la cornée; *la sécrétion nasale* se comporte de même, dans certains cas du moins, ainsi qu'il résulte de l'expérience que voici :

Expérience. — *M*me *H...*, atteinte de ptosis gauche. Un tampon imbibé de glycérine est placé pendant vingt-quatre heures dans la narine droite. On scarifie la cornée des *lapins* 8-*M* et 52-*B* et on la badigeonne avec le tampon imbibé de sécrétion nasale. Les deux animaux font une kérato-conjonctivite intense, qui dure douze jours chez le premier et soixante-sept jours chez le second.

Nous n'avons jamais constaté, chez les animaux inoculés à la cornée avec du virus salivaire, de troubles morbides indiquant une généralisation de la maladie. Chez aucun de ceux qui ont succombé au cours de l'expérience, nous n'avons décelé de lésions, même minimes, d'encéphalite. D'ailleurs, les passages faits avec le cerveau des lapins morts, porteurs de kératite salivaire, sont restés constamment négatifs. Mieux encore, lorsqu'on extirpe la cornée malade et qu'on l'injecte telle quelle, ou après filtration préalable, dans le cerveau d'un animal neuf, celui-ci ne contracte pas l'encéphalite.

Expérience. — La cornée du *lapin* 34-*Mc* (premier passage de kératite salivaire du *lapin* 25-*M*) est extirpée, puis triturée avec de l'eau salée isotonique. Une partie de l'émulsion est inoculée dans le cerveau du *lapin* 10-*A* et dans la chambre antérieure de l'œil du *lapin* 9-*A* ; une autre partie est filtrée à travers une bougie Chamberland 3 (filtrat stérile); le filtrat est injecté par

voie cranienne au *lapin* 8-*A*, et par voie cornéenne au *lapin* 6-*A*. Ce dernier seul fait une légère kératite centrale. Tous les animaux survivent, sans avoir présenté le moindre signe d'encéphalite.

Ces constatations montrent *que le virus salivaire kératogène, germe filtrant, est incapable d'engendrer l'encéphalite chez les animaux qui se montrent sensibles au virus de la maladie de v. Economo.* Il se borne à provoquer une vésico-pustule cornéenne, accompagnée de kératite et de conjonctivite.

Rappelons que ces constatations, concernant le pouvoir kératogène de la salive (1), ont été confirmées par Doerr et Schnabel (2).

b) *Virus salivaire kératogène et encéphalitogène. Virus des porteurs sains.*

Dans une note préliminaire, présentée à la *Société de Biologie* le 7 mai 1921 (3), nous avons attiré, pour la première fois, l'attention sur la présence, dans la salive normale, d'un virus capable d'engendrer, chez le lapin, non seulement la kérato-conjonctivite, mais aussi une encéphalite aiguë mortelle. Voici les détails de nos expériences :

Source de virus. — Chez *Ac...*, quarante ans, absolument bien portant, n'ayant jamais eu de symptômes d'encéphalite léthargique ou autre, mais ayant été fréquemment en contact avec des encéphalitiques, on recueille, le 25 mars, de la salive mixte, que l'on répartit en deux portions *A* et *B*. La portion *A* sert à infecter, par scarification de la cornée, les *lapins* 50-*A* et 51-*A*. La portion B est additionnée d'eau salée isotonique et centrifugée rapidement; le liquide clair surnageant est filtré, en partie sur bougie Chamberland n° 1, en partie sur bougie n° 3 (filtrats stériles).

Deux *lapins* 49-*A* et 53-*A* sont infectés par scarification de la cornée, le premier avec le filtrat n° 1, le second avec le filtrat n° 3.

Résultat des inoculations. — *Lapin* 50-*A* montre une légère kératite (opacité de la cornée, sécrétion séro-purulente) le troisième jour. Cette kératite guérit le quatrième jour et l'animal survit.

Le lapin 51-*A* (salive *non filtrée*) fait, dès le deuxième jour, une kérato-conjonctivite intense qui persiste, en s'aggravant, jusqu'au neuvième jour. A ce moment, l'*animal est malade* : il tourne la tête du côté de l'œil infecté, a du strabisme, sa respiration est entrecoupée. On le sacrifie par saignée.

(1) Les auteurs ont tenté d'établir un rapport entre la virulence de la salive et la prédisposition à l'*herpes* fébrile. Nous reviendrons plus loin sur cette question.

(2) Doerr et Schnabel. *Schweizerische mediz. Woch.*, 1921, n° 24.

(3) Levaditi, Harvier et Nicolau. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 84, p. 817, 1921.

Culture du cerveau : stérile. Lésions cérébrales : méningite à mononucléaires (lymphocytes et polyblastes, manchons périvasculaires, çà et là foyers d'encéphalite aiguë au niveau de la zone élective). Altérations de kératite aiguë interstitielle.

Les *lapins* 49-*A* et 53-*A* (*filtrat* de salive), présentent le deuxième jour une légère kératite qui guérit complètement le troisième jour ; les deux animaux survivent.

Cette expérience prouve que *la salive d'un sujet sain Ac contient un virus qui, inoculé à la cornée du lapin, provoque une kérato-conjonctivite absolument semblable à celle qui succède à l'inoculation du virus de l'encéphalite* (provenant du cerveau de sujets atteints de la maladie de v. Economo). *Cette kératite est suivie de la mort de l'animal, le neuvième jour, avec des symptômes et des altérations cérébrales encéphalitiques.* L'inoculation à la cornée du même virus salivaire, préalablement filtré, ne provoque qu'une kératite légère et passagère ; les animaux survivent.

Transmission en série. — Deux modes de transmission en série ont été réalisés : *a*) de cornée à cornée, par scarification, avec des produits prélevés au niveau de la kératite, le troisième ou quatrième jour de son évolution ; *b*) de cerveau à cerveau (inoculation intracranienne). Tous les passages ont eu, comme point de départ, le *lapin* 51-*A*. A l'heure actuelle, nous avons réalisé 12 transmissions exclusivement cornéennes et 11 passages de cerveau à cerveau, suivant le schéma ci-après :

C = passage cornéen ; E = passage cérébral.

Lapin 51-A
- C. . C_1 (+ 8e j.) — C_2 (+ 11e j.) — C_3 (+ 8e j.) — C_4 (+ 13e j.) — C_5 (+ 8e j.) — C_6 (+ 8e j.) — C_7 (+ 10e j.] — C_{11} — C_{12}.
- E. . E_1 (+ 5e j.) — E_2 (+ 4e j.) — E_3 + (5e j.) — E_4 (+ 4e j.) — E_5 (+ 3e j.) — E_6 (+ 5e j.) — E_7 (+ 4e j.) — E_8 (+ 4e j.) — E_9 (+ 5s j.) — E_{10} (4e j.) — E_{11}.

L'expérience montre que le virus encéphalitique salivaire se transmet indéfiniment de cornée à cornée, provoquant la mort de l'animal par encéphalite, en moyenne le huitième jour (parfois le onzième ou le treizième jour). Il se propage également indéfiniment par voie cérébrale, déterminant la mort du lapin du quatrième au cinquième jour. Tous les animaux de l'une ou l'autre série présentent des altérations cérébrales absolument identiques à celles que l'on obtient avec le virus encéphalitique proprement dit.

Affinités cérébrale et cornéenne. — Malgré de nombreux passages de cornée à cornée, le virus salivaire conserve son

affinité pour le système nerveux central. En effet, du premier au sixième passage cornéen, nous avons eu soin d'inoculer une parcelle du cerveau des lapins, ayant succombé à la suite de la kératite, dans l'encéphale d'autres lapins neufs. Constamment l'inoculation a provoqué l'encéphalite mortelle (incubation de quatre à sept jours).

De même, ce virus, passé un grand nombre de fois de cerveau à cerveau, garde intacte son affinité pour la cornée. Ainsi, après le sixième passage, nous avons infecté, avec du cerveau provenant de ce sixième passage, un lapin neuf (28-*B*) par la voie cornéenne ; résultat : kératite intense, suivie de la mort de l'animal le huitième jour.

Filtrabilité du virus. — *Le virus salivaire encéphalitogène du sujet Ac est un germe filtrant* : il traverse les bougies Chamberland 1 et 3. Cette filtrabilité est démontrée d'une part, par l'inoculation de la salive centrifugée et filtrée (voir plus haut : les deux *lapins* 49-*A et* 53-*A* ont contracté une kératite apparente, quoique légère) ; d'autre part, par l'expérience suivante, qui prouve que le virus salivaire, ayant subi un premier passage cérébral, filtre aisément à travers une bougie Chamberland n° 1.

Expérience. — L'émulsion du cerveau du *lapin* 51-*A*, inoculée par voie cérébrale au *lapin* 97-*A*, détermine une encéphalite mortelle. L'encéphale de ce dernier lapin sert à préparer une émulsion, qui est filtrée sur bougie Chamberland n° 1 (filtrat stérile), puis injectée par voie cranienne au *lapin* 18-*O*, et par voie cornéenne au *lapin* 21-*O*. Les deux animaux meurent d'encéphalite : le premier *le cinquième jour* (passage positif, lésions caractéristiques), le second *le septième jour* (kératite intense, altérations typiques).

L'ensemble de ces constatations montre que *le virus encéphalitique contenu dans la salive de Ac, se comporte comme le germe provenant du cerveau de sujets atteints de la maladie de v. Economo.* Tant au point de vue des propriétés biologiques qu'au point de vue de la virulence et des lésions histo-pathologiques engendrées, aucune différence ne saurait être révélée entre les deux virus.

*
* *

Immunité croisée. — Ce rapprochement entre le virus salivaire kératogène, le virus de la salive des porteurs et le virus de

l'encéphalite épidémique, peut être encore mis en évidence par nos expériences d'*immunité croisée*. Ces expériences concernent :

I. *Le virus salivaire kératogène*. — En général, le virus salivaire, dont l'activité pathogène est faible, vaccine contre lui-même (immunité homologue), ou contre un échantillon moins virulent, mais non pas contre une salive plus virulente. *A fortiori*, ne vaccine-t-il pas contre le virus des porteurs, ni

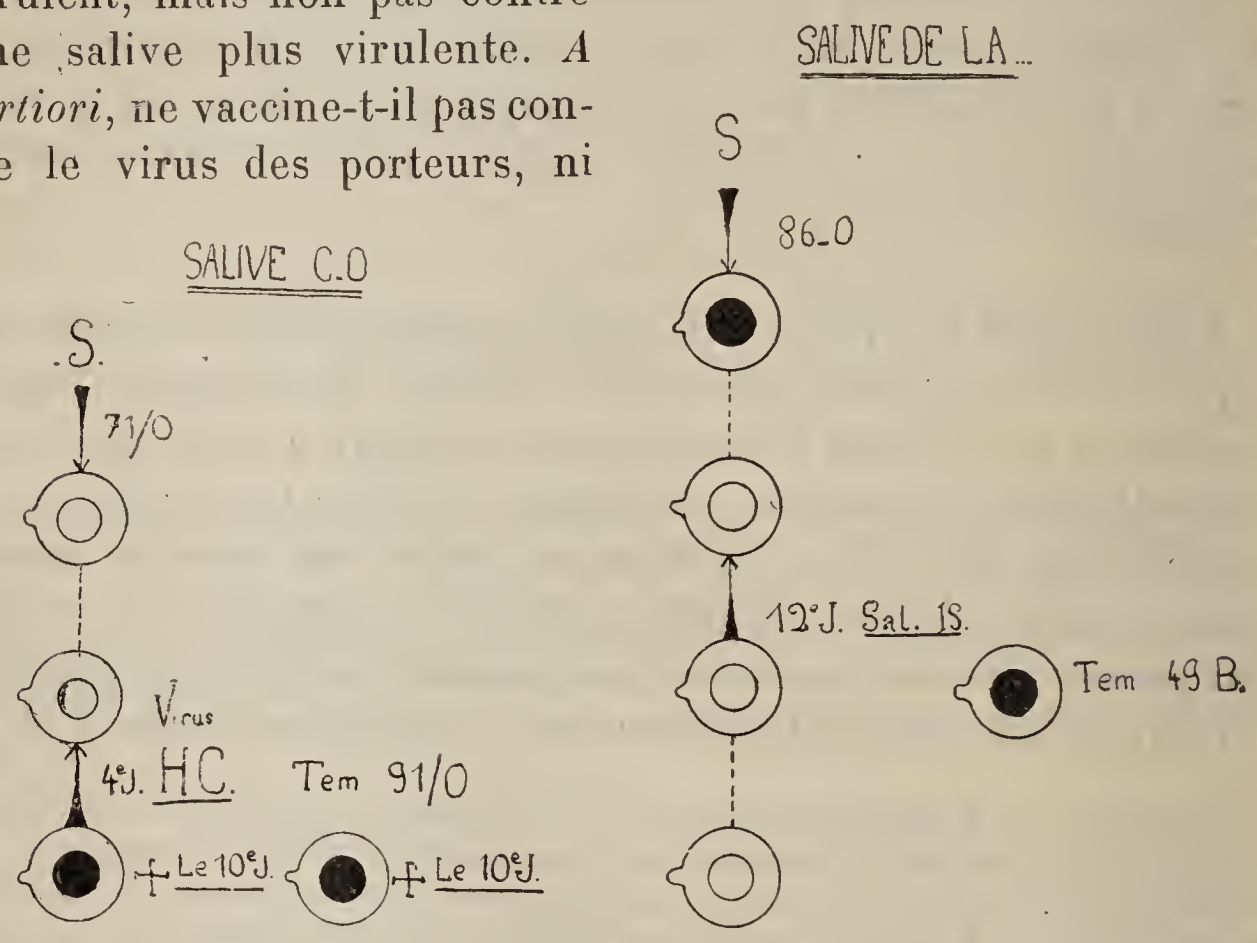


Schéma 1. Schéma 2.

Schéma 1. — Les flèches indiquent l'inoculation à la cornée. Elles portent, du côté droit, la nature du virus inoculé. Le schéma de l'œil contient un cercle central. Le cercle *noir* veut dire *présence de kératite*; le cercle *blanc* indique *absence de kératite* ou *kératite guérie*. A gauche, l'animal en expérience; à droite, les témoins. *S*, salive de *Co*; *HC*, virus encéphalitique *HC*.

Schéma 2. — *La*, salive de *La*; *Is*, salive de *Is*.

contre celui de l'encéphalite. Les expériences suivantes en fournissent les preuves.

Expérience. — a) *La salive non kératogène ne vaccine pas la cornée contre le virus encéphalitique*. Salive de *C*... Scarification de la cornée du *lapin* 71-*O*; aucune réaction locale. Nouvelle scarification de la même cornée avec le virus encéphalitique *HC* : pustule de la cornée, kérato-conjonctivite intense, mort de l'animal par encéphalite (lésions typiques) le dixième jour. Le *lapin témoin* 91-*O* fait une kérato-conjonctivite et succombe d'encéphalite le dixième jour (schéma 1).

b) *La salive kératogène vaccine la cornée contre la même salive, ou contre une salive moins virulente qu'elle, mais n'immunise pas contre une salive plus virulente.*

1° *Salive de Is...* Inoculation à la cornée droite du *lapin* 81-*A* : kérato-conjonctivite, qui guérit le dixième jour. Nouvelle scarification de la cornée avec la même salive, pratiquée le *douzième jour*, sur le *lapin* 81-*A* et sur le *lapin témoin* 51-*O*. Ce dernier fait une kératite intense, tandis que le premier ne réagit pas.

2° *Salive de La...* Inoculation à la cornée du *lapin* 86-*O*. Kératite qui guérit le sixième jour. Nouvelle scarification le douzième jour avec *la salive moins virulente Is...* (cornée droite du *lapin* 86-*O* et du *lapin témoin* 49-*B*). Ce dernier fait une kératite intense, qui évolue en trente et un jours, tandis que le premier ne réagit pas (schéma 2).

3° *Salive de Z...* Inoculation à la cornée droite du *lapin* 59-*O* : kérato-conjonctivite qui guérit le neuvième jour. Nouvelle scarification de la cornée avec *la même salive*, pratiquée le onzième jour : *aucune réaction*. Cinq jours après, inoculation de *la salive plus virulente H...* ; la même opération est pratiquée sur le *lapin* 48-*B* : les deux animaux font de la kératite, accompagnée de conjonctivite (schéma 3).

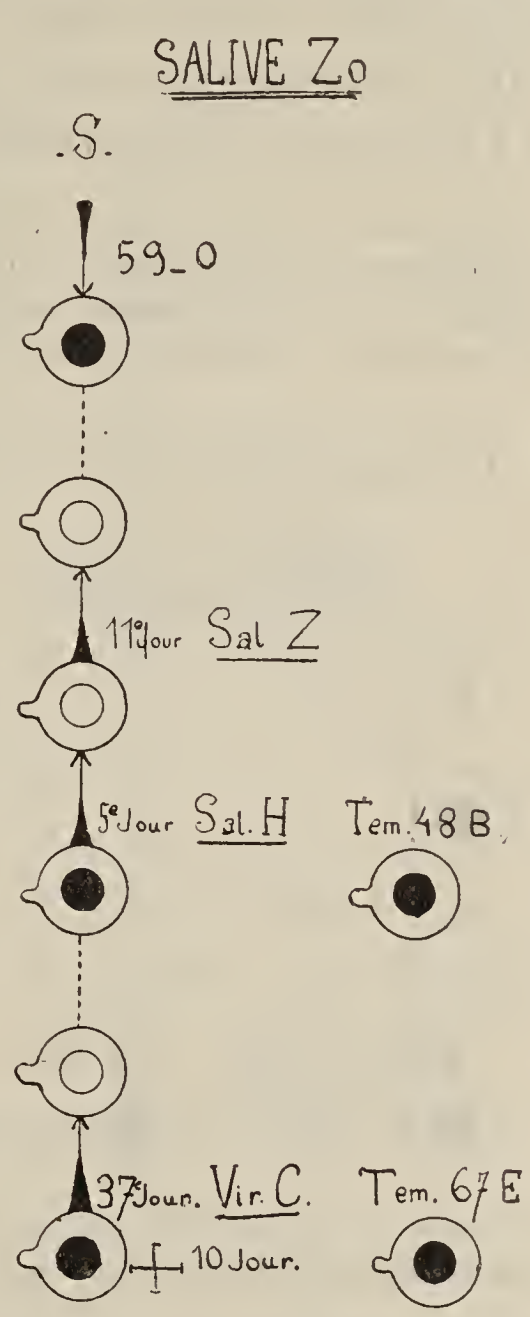


Schéma 3. — *S*, salive de *Z...* ; *H*, salive de *H...*

c) Dans la grande majorité des cas, la *salive kératogène ne vaccine ni contre le virus encéphalitique proprement dit, ni contre le virus salivaire des porteurs* (dont les propriétés ont été décrites précédemment).

1° *Salive de Z...* Le *lapin* 59-*O* (voir ci-dessus) qui, après guérison, avait montré une immunité locale homologue, mais qui avait réagi à l'inoculation d'une salive plus virulente *H*, guérit de cette dernière kératite le trente-septième jour. Il est réinfecté alors, en même temps que le *témoin* 67-*E*, avec du *virus encéphalitique C*. Les deux animaux font de la kératite et meurent d'encéphalite, le premier après dix jours, le second après douze jours (schéma 3).

2° *Salive de H...* (glycérine). Inoculation à la cornée droite du *lapin* 19-*O* : kératite qui guérit le seizième jour. Scarification de la même cornée et de la cornée droite du *lapin témoin* 10-*B*, avec du *virus cérébral Ac* (*virus de porteurs*).

Les deux animaux font une pustule cornéenne intense et succombent d'encéphalite après huit jours (schéma 4).

Plusieurs autres expériences analogues ont fourni des résultats identiques (1). D'ailleurs, ces animaux, qui jouissent de l'immunité locale contre la salive homologue, ou contre une salive hétérologue moins virulente, *n'ont pas résisté non plus à l'inoculation intracérébrale de virus encéphalitique.*

Expérience. — *Salive de H...* inoculée au *lapin* 27-*B* à la cornée. Kératite térébrante. *Cinquante-neuf jours* après, on injecte dans le cerveau de ce lapin 0 c. c. 2 d'émulsion de virus encéphalitique. L'animal succombe d'encéphalite le deuxième jour (lésions caractéristiques).

Inutile d'ajouter que la scarification de la cornée et l'inoculation consécutive de bactéries salivaires, obtenues par culture, ne vaccine ni contre le virus salivaire, ni contre celui de l'encéphalite.

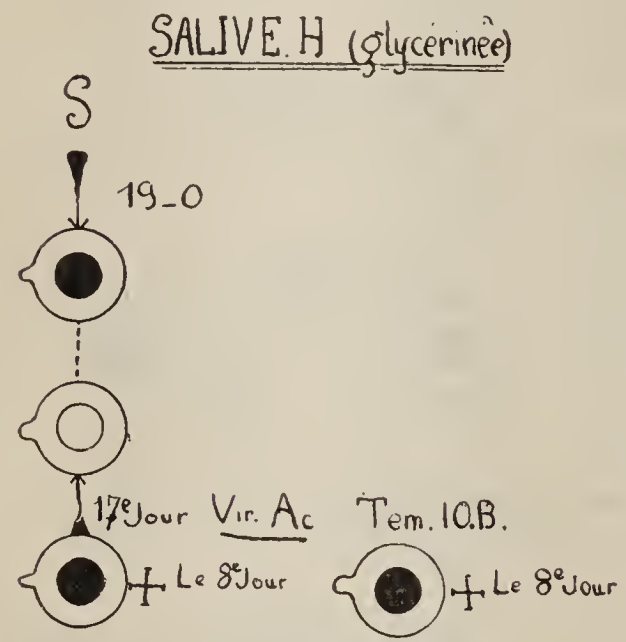


Schéma 4. — *H*, salive de *H*; *Ac*, virus encéphalitique des *porteurs sains.*

* * *

Il résulte de l'ensemble de ces recherches que l'*ultra-virus salivaire kératogène immunise la cornée contre lui-même* (vaccination homologue) *ou contre un échantillon salivaire moins virulent que lui, mais, en général, ne vaccine pas contre une salive plus active, ou contre le germe de l'encéphalite.*

Ces expériences sembleraient, au premier abord, plaider en faveur de l'absence de toute parenté entre l'ultra-virus salivaire kératogène et celui de l'encéphalite. Mais il y a des *exceptions* à la règle précédente, et ce sont précisément celles-ci qui prouvent l'*identité de nature entre cet ultra-virus et celui de la maladie de v. Economo.*

(1) D'ailleurs le virus kératogène *nasal* se comporte de même : il ne vaccine pas la cornée contre le germe de l'encéphalite.

Ces exceptions, les voici :

Expérience. — 1° *Salive de Is...* inoculée à la cornée droite du *lapin* 49-*B*; kératite intense, qui guérit vers le trente et unième jour. Trente-cinq jours après l'inoculation, on scarifie la même cornée, ainsi que la cornée droite du *lapin témoin* 67-*E*, avec le *virus encéphalitique de passage C*. Aucune réaction chez le premier animal ; kératite intense chez le second. Celui-ci meurt d'encéphalite le douzième jour (schéma 5).

2° *Salive de Is...* (autre échantillon). Même *lapin* 81-*A*, qui a servi à l'expérience 1. Huit jours après l'inoculation inoffensive de la salive homologue *Is...*, on scarifie la même cornée avec le *virus encéphalitique des porteurs Ac* (le *lapin* 91-*O* sert de *témoin*). Ce dernier fait de la kératite et

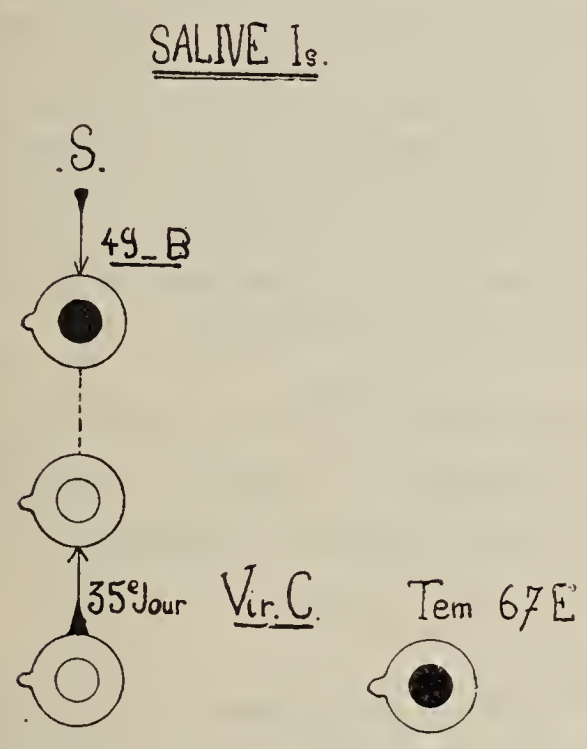


Schéma 5.

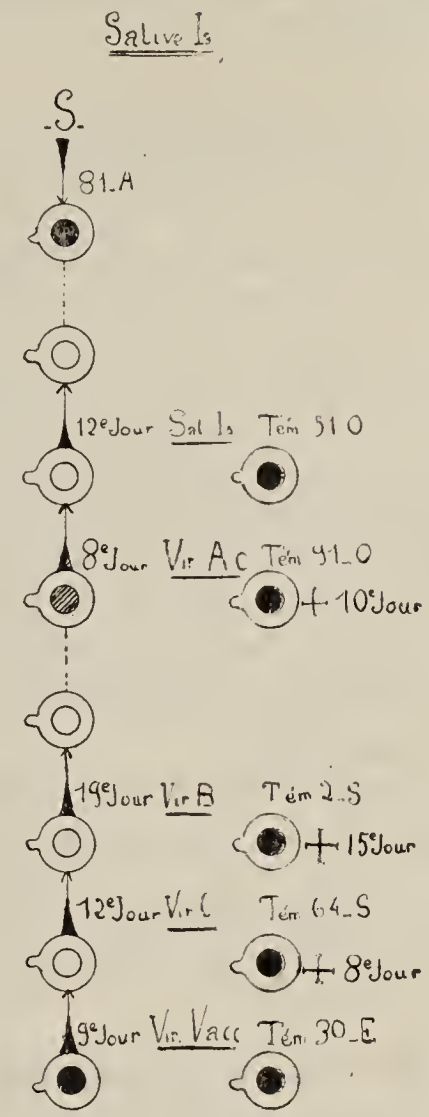


Schéma 6.

Schéma 5. — *Is*, salive de *Is*; C, *virus encéphalitique de passage.*

Schéma 6. — *Is*, salive de *Is*; *Ac*, virus encéphalitique de porteurs; *B*, virus de l'*herpès*; *C*, virus encéphalitique de passage (v. fixe); *Va*, *vaccine*.

meurt d'encéphalite le dixième jour, tandis que le *lapin vacciné* 81-*A* réagit légèrement et survit. *Dix-neuf jours après*, nouvelle scarification avec le *virus de l'herpès* (voir chapitre IX): le *lapin* 2-*S* sert de témoin. Kératite chez ce dernier, qui meurt le quinzième jour (encéphalite diagnostiquée histologiquement); rien chez le vacciné. De nouveau, scarification de la même cornée avec le virus encéphalitique fixe *C* (témoin *lapin* 64-*S*), faite le douzième jour. Le témoin meurt d'encéphalite le huitième jour. Le lapin 81-A ne réagit pas et survit (schéma 6).

Il y a donc, dans ce cas, une véritable *panimmunité* créée par la salive de *Is...* contre tous les virus encéphalitogènes en

notre possession. Afin de nous assurer qu'il s'agit bien ici d'une immunité locale *spécifique*, nous avons inoculé une dernière fois, à la même cornée, du *virus vaccinal* de passage (voir chapitre XVI, p. 139), nous servant, comme témoin, du *lapin* 30-*E* : cette fois, les deux animaux, le vacciné contre l'encéphalite, comme le normal, ont présenté une très belle kératite vaccinale.

3° *Salive de H...* [dépôt de centrifugation conservé dans la glycérine] est inoculée à la cornée droite du *lapin* 23-*O* ; kératite légère qui guérit en cinq jours. *Dix-sept jours après*, on pratique une seconde scarification de la même cornée avec du virus encéphalitique *Ac* (virus de porteurs); le *lapin* 10-*B* sert de témoin. Ce dernier succombe d'encéphalite le huitième jour. Le *lapin* 23-*O* fait une kératite et paraît manifestement malade le neuvième jour. Il se remet rapidement et sa kératite guérit dans la suite. Vingt jours après cette dernière scarification, on en pratique une autre, cette fois-ci avec le virus de l'*herpès* (*B*); le *lapin* 28-*S* sert de témoin. Aucune réaction locale chez le premier, kératite intense chez le témoin, qui succombe le dix neuvième jour d'encéphalite. *Sept jours après*, *troisième* inoculation avec *le virus encéphalitique de passage C*; on se sert, comme témoin, du *lapin* 64-*S*. Celui-ci fait une kératite et meurt d'encéphalite le huitième jour, tandis que le lapin *vacciné* 23-*O* ne réagit en aucune façon (schéma 7).

Comme dans les expériences précédentes, nous avons finalement éprouvé la réceptivité de l'animal à l'égard du *virus de la vaccine* (témoin : *lapin* 31-*E*) : *belle pustule vaccinale de la cornée chez tous deux.*

Ces observations, auxquelles nous pourrions en ajouter d'autres, montrent que *certaines salives purement kératogènes vaccinent non seulement contre le virus encéphalitique des porteurs sains, mais aussi contre tous les germes encéphalitogènes en notre possession, y compris le virus de* l'HERPÈS, dont il sera question plus loin. Il s'agit bien là d'une *vaccination spécifique*, puisque l'animal qui a résisté à l'inoculation cornéenne de tous ces virus, administrés successivement, demeure sensible au virus de la vaccine (pustule vaccinale cornéenne).

Il est donc permis, autant que les expériences d'immunité croisés l'autorisent, de conclure à l'identité de nature entre le virus salivaire kératogène, d'une part, le virus encéphalitogène des porteurs sains et des sujets atteints de la maladie de v. Economo, d'autre part.

II. *Le virus des porteurs sains.* — La salive du porteur sain *Ac*, douée à la fois de propriétés kératogènes et encéphalitogènes, nous a servi à l'expérience d'immunité croisée que voici :

Expérience. — Le *lapin* 53-*A* est inoculé, à la cornée droite, avec la salive de *Ac*, préalablement filtrée sur bougie Chamberland n° 1. Il présente une légère kératite, qui guérit rapidement. Il est réinfecté le sixième jour, par la même voie, en même temps que le *témoin* 71-*A*, avec le même *virus sali-*

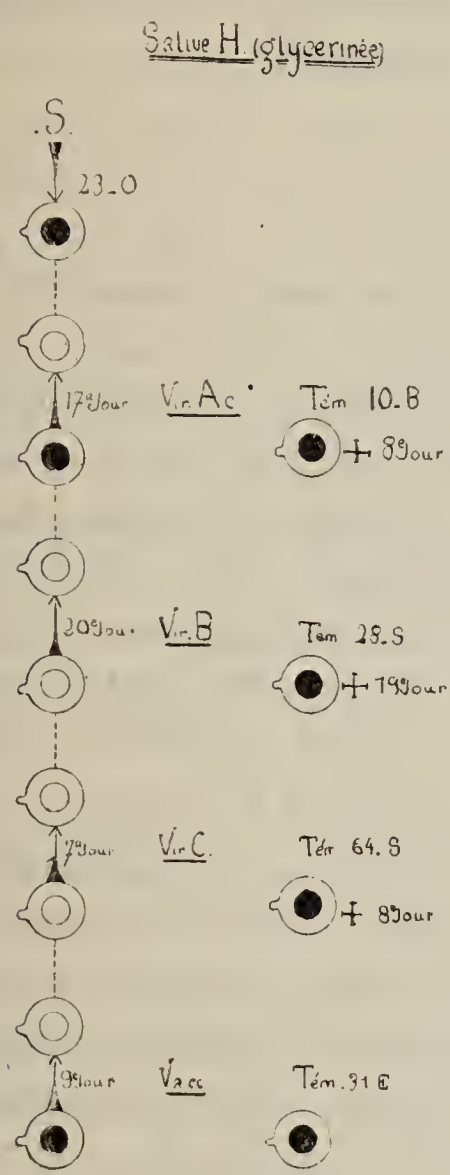


Schéma 7.

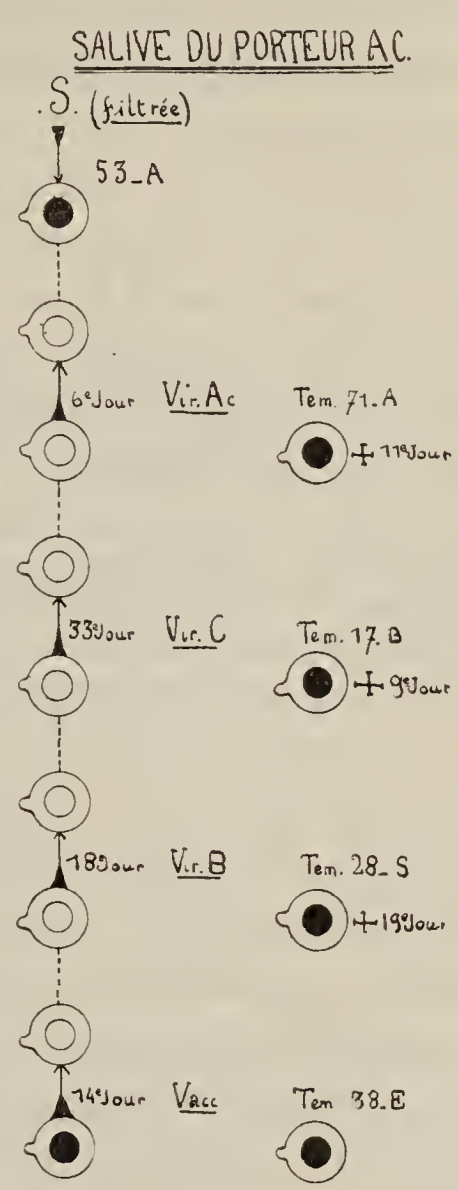


Schéma 8.

Schéma 7. — *H*, salive de *H*; *Ac*, *virus encéphalitique de porteur*; *B*, virus de l'*herpès*; *C*, virus encéphalitique de passage; Vacc., *virus vaccinal.*

Schéma 8. — *Ac*, salive du *porteur Ac*; *Virus Ac*, *virus encéphalitique du même porteur*; *C*, virus *encéphalitique fixe*; *B*, virus de l'*herpès*; *Vacc.*, *virus vaccinal.*

vaire Ac, ayant subi un premier passage sur la cornée. Le témoin meurt d'encéphalite le onzième jour, tandis que le *lapin* 53-*A* survit (kératite passagère).

Trente-trois jours après la première inoculation, on infecte de la même manière le *lapin* 53-*A*, cette fois-ci avec du virus encéphalitique proprement dit (notre *virus fixe C*); le *lapin* 17-*B* sert de témoin. Aucune réaction chez le *lapin* 53-*A*; mort du témoin le neuvième jour (lésions typiques). Dix-huit

jours après, scarification de la même cornée avec le virus de l'*herpès B*; le *lapin* 28-*S* sert de témoin. Ce dernier fait une kératite et succombe d'encéphalite le dix-neuvième jour, cependant que le *lapin vacciné* 53-*A*, ne réagit pas. Enfin, inoculation du *virus de la vaccine*, le quatorzième jour (témoin : *lapin* 38-*E*). *Résultat.* — Belle pustule cornéenne chez les deux animaux inoculés (schéma 8).

Cette expérience, ajoutée aux précédentes, démontre *l'identité absolue entre le virus contenu dans la salive du sujet bien portant Ac et le virus de l'encéphalite léthargique.*

*
* *

Conclusions. — Jetons un coup d'œil sur l'ensemble des constatations résumées dans ce chapitre. Elles nous enseignent que la salive (pour mieux préciser, les cellules épithéliales qu'elle contient) peut, chez certains sujets absolument bien portants et qui n'ont jamais eu d'encéphalite, contenir un virus filtrant, dont l'identité avec celui de la maladie de v. Economo est strictement démontrée. *Ce virus offre une activité pathogène variable.* Le procédé de l'inoculation à la cornée permet de préciser le degré de cette activité. Le plus souvent, elle est faible et se borne à déterminer, chez le lapin, une simple pustule de la cornée, accompagnée de kérato-conjonctivite; mais, parfois, elle est très accusée et engendre, en plus de cette lésion locale, une véritable encéphalite mortelle, identique à celle que provoque le germe encéphalitique d'origine cérébrale. Les expériences d'immunité croisée mettent en lumière l'identité de nature entre ces variétés (atténuée ou virulente) de virus salivaire et le germe de l'encéphalite.

Dans la maladie de v. Economo, comme dans la poliomyélite [Cf. *les expériences de Flexner, Clark et Fraser* (1) *et de Kling et Pettersson* (2)], *il existe donc de véritables porteurs sains de germes; le rôle actif de ces porteurs, dans la propagation de l'infection, admis par les hygiénistes, doit être considéré comme rigoureusement démontré par l'expérience.*

(1) Flexner, Clark et Fraser. *Journ of the Americ. med. Assoc.*, 1913, **1**, n° 18.
(2) Kling et Pettersson. *Congrès d'Hygiène de Washington*, 1912. Nordska Bokhandeln, Stockholm.

Des recherches complémentaires ont eu pour but de préciser :

1° *La fréquence des sujets normaux dont la salive est à la fois kératogène et encéphalitogène* ;

2° *Les variations de la virulence de la salive chez un même individu.*

1° En ce qui concerne le premier point, nous n'avons constaté la présence du virus salivaire encéphalitogène que deux fois parmi les 13 cas examinés, ce qui donne *un pourcentage de* 15 p. 100. Un de ces cas est celui qui vient d'être décrit précédemment; le second ne nous a fourni qu'un *virus atténué*. Ce virus jouissait d'une virulence peu marquée et ne put être inoculé indéfiniment en série.

Expérience. — La salive de *Mme Poi...*, infirmière, est inoculée à la cornée du *lapin* 61-*O* : kératite intense. L'animal meurt le douzième jour, alors que les lésions cornéennes étaient en voie de cicatrisation. Cultures du cerveau : négatives. L'encéphale de ce lapin, qui ne montre pas de lésions bien marquées, sert à faire un passage cérébral sur le *lapin* 68-*B* ; celui-ci meurt le septième jour (cultures négatives), avec des infiltrations méningées à mononucléaires, peu accusées, mais sans encéphalite proprement dite. Passage cérébral sur le *lapin* 18-*S* ; mort le neuvième jour. Un troisième passage est négatif.

Il ressort de ces investigations que *si un grand nombre de salives normales sont kératogènes* (80 p. 100), *par contre, une petite minorité* (15 p. 100) *sont douées de propriétés à la fois kératogènes et encéphalitogènes. Les porteurs sains de virus capables de propager l'encéphalite sont donc relativement rares.* Ces chiffres n'ont d'ailleurs rien de définitif; ils varieront sans doute en multipliant les essais et en opérant dans des milieux différents du nôtre. Il est certain, d'autre part, que le pourcentage des porteurs sains oscillera dans des limites assez larges, suivant que les recherches seront entreprises en pleine épidémie d'encéphalite, ou en dehors des périodes épidémiques.

2° Pour ce qui a trait *aux variations de virulence de la salive chez le même individu*, nos expériences nous ont enseigné ce qui suit :

Expérience. — Nous avons procédé, chez le sujet *Ac, porteur sain*, à des essais successifs de virulence de la salive. Ces essais nous ont fourni les résultats suivants :

1. 16 mars 1921 : salive kératogène.
2. 19 — salive kératogène.
3. 25 avril 1921 : *salive kératogène et encéphalitogène (virulence forte).*
4. 9 mars 1921 : salive kératogène.
5. 12 — *salive kératogène et encéphalitogène (virulence atténuée).*
6. 24 — salive kératogène.
7. 3 juin 1921 : *salive inactive.*
8. 6 — salive kératogène.

Huit examens ont donc été pratiqués du 16 mars au 6 juin 1921. De ces examens, le troisième a révélé la présence de *virus encéphalitique très actif*, et le cinquième, celle d'un *virus atténué*; tous les autres n'ont mis en évidence que la variété exclusivement kératogène. Voici l'histoire du *virus atténué* fourni par la cinquième inoculation, pratiquée le 12 mai.

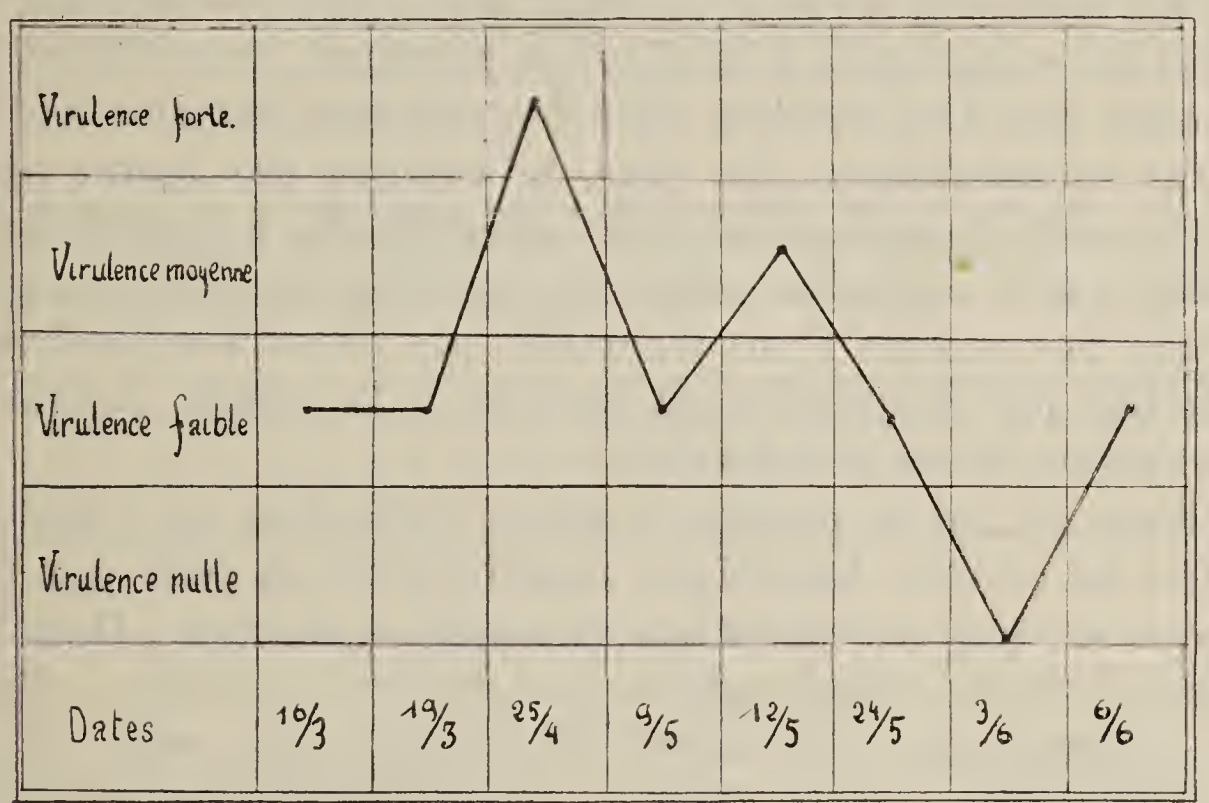
Expérience. — Le *lapin* 40-*O* reçoit, à la cornée gauche, de la salive mixte de *Ac*. Kératite centrale et sécrétion purulente le cinquième jour, qui diminuent d'intensité dans la suite. L'animal meurt le *seizième jour*. Cultures négatives du cerveau et du sang du cœur. L'examen de l'encéphale montre une légère inflammation méningée à mononucléaires; absence de manchons périvasculaires et de lésions proprement dites d'encéphalite. *Premier passage cérébral* sur le *lapin* 18-*B*. Celui-ci succombe le *douzième jour* (culture du cerveau négative). Mêmes lésions d'irritation méningée à mononucléaires. *Deuxième passage* sur le *lapin* 86-*B*; celui-ci succombe le *onzième jour*. *Troisième passage cérébral* sur le *lapin* 39-*S*. L'animal survit.

Il résulte de ces recherches que, *chez un même sujet, porteur sain de germes, la virulence de la salive peut offrir des variations allant de l'innocuité complète* (examen du 3 juin) *à une activité pathogène qui égale celle du virus encéphalitique proprement dit* (examen du 25 avril). Des virulences moyennes (encéphalite atténuée), ou faibles (pouvoir exclusivement kératogène) constituent des transitions entre ces deux extrêmes. La courbe ci-dessous traduit ces oscillations du pouvoir pathogène de la salive chez le sujet *Ac* (courbe 4).

Comment expliquer ce phénomène? Nous avons montré que le virus salivaire ne provient pas de la sécrétion des glandes salivaires, mais qu'il vit au contact des cellules épithéliales de la bouche, dont il est très probablement le parasite obligatoire. Il s'ensuit que ces variations de virulence traduisent des cultures successives du germe encéphalitique dans la bouche, cultures dont la richesse en virus filtrant peut varier d'un moment à l'autre. Ce fait n'est pas sans offrir

des analogies frappantes avec ce qui se passe dans la rage (1). Roux et Nocard ont constaté, en effet, que chez le chien inoculé de rage, la virulence de la salive se manifeste pendant la période d'incubation et qu'elle subit des variations journalières frappantes. Tantôt elle est très accusée, tantôt elle est très faible, tantôt la salive se montre totalement dépourvue de pouvoir rabigène.

Quoi qu'il en soit, il y a lieu de conclure, au point de vue pratique, que *le danger de contamination, au contact d'un por-*



Courbe 4.

teur de germes, n'est pas le même à chaque instant. D'autre part, puisqu'il y a culture du virus encéphalitique dans la cavité buccale, on doit pouvoir diminuer, ou même supprimer totalement cette culture, grâce à l'emploi d'antiseptiques qui détruisent ce virus *in vitro* (permanganate de potasse, bleu de méthylène).

IX. — Relations entre le virus de l'encéphalite et le virus dit de l' « herpès ».

En 1913, Grüter (2), inoculant la sérosité prélevée sur l'herpès cornéen humain, réussit à transmettre la lésion au

(1) Des expériences en cours montreront si, chez le lapin, on peut réaliser de telles cultures *in vivo* du virus rabique, dans la bouche.
(2) Grüter, cité d'après Löwenstein.

lapin. Löwenstein (1) vérifia ces constatations et vit que non seulement l'herpès de la cornée, mais aussi l'herpès en général, exception faite de l'*herpes zoster*, est infectieux pour le lapin. La kératite herpétique expérimentale peut être transmise en série; elle laisse, après guérison, un état d'immunité locale de la cornée infectée, coïncidant avec une réceptivité normale de la cornée opposée.

Doerr et Wöchting (2) ont repris ces recherches; ils ont établi que la maladie herpétique du lapin n'est pas exclusivement localisée à la cornée. Il s'agit d'une infection généralisée, dont les symptômes, à localisation nerveuse, ressemblent fort à ceux que l'on constate chez les animaux inoculés avec le virus encéphalitique. De plus, le cerveau des lapins ayant succombé à la suite de la kératite herpétique, se montre infectieux, *par inoculation intracranienne* (deux expériences positives). Les auteurs n'ont cependant pas réussi à engendrer la kératite par inoculation de cerveau à la cornée (défaut de technique, Doerr et Schnabel).

Blanc (3) fut le premier à attirer l'attention sur l'analogie entre la kératite herpétique expérimentale et celle que provoque le virus encéphalitique (Levaditi et Harvier). Dans une série de Notes communiquées à la *Société de Biologie*, Blanc et Caminopetros (4) étudient les propriétés du virus dit de l'herpès. Sans entrer dans le détail de leurs constatations, disons que tous les faits relatés par ces auteurs sont pour ainsi dire calqués sur ceux que nous avons établis au sujet de l'encéphalite léthargique : filtrabilité du virus (5), conservation dans la glycérine et à l'état sec, action de la bile, immunité locale, action kératogène du cerveau, etc. C'est d'ailleurs la lecture de notre Note, ayant trait à la kératite encéphalitique, qui détermina Blanc à rapprocher les deux virus, celui de l'herpès et celui de l'encéphalite.

Etant donnée la similitude entre les résultats publiés par

(1) Lowenstein. *Münch. med. Woch.*, 1919, p. 769; *Klin. Monatsbl. für Augenheilk.*, 1920, t. LXIV.

(2) Doerr et Wöchting. *Revue générale d'ophtalmologie*, 1920, **34**.

(3) Blanc. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, mars 1921.

(4) Blanc et Caminopetros. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1921, **84**, p. 629 et 859; **85**, p. 290.

(5) Löwenstein n'avait pas réussi auparavant à démontrer la filtrabilité du virus herpétique (*loc. cit.*).

Löwenstein, Doerr et ses collaborateurs, ainsi que par Blanc et Caminopetros, et ceux obtenus au cours de nos études sur la maladie de v. Economo, il était indiqué d'entreprendre des recherches sur le virus de l'herpès. Voici le résultat de nos observations :

1° *Le virus de l'herpès ne produit pas toujours une maladie généralisée à issue mortelle chez le lapin.*

Expérience. — a) *Vésicules d'herpès labiale de N...* — Raclage des vésicules et inoculation par scarification à la cornée droite du *lapin* 48-*S*. Dès le lendemain, sécrétion conjonctivale. Kératite et suppuration de la conjonctive le quatrième jour. Vers le huitième jour, l'animal tourne la tête du côté de l'œil malade. Ces phénomènes s'accentuent le quinzième jour. La kératite s'atténue le vingt-troisième jour et finit par guérir complètement. L'animal survit.

Un passage de cornée à cornée a été pratiqué le huitième jour sur le *lapin* 96-*S*. Celui-ci fait une kératite, qui guérit le quinzième jour (plus rapidement que celle de l'animal précédent). L'animal n'a jamais été malade apparemment.

b) *Virus de l'herpès* (1). — Ce virus, qui avait subi de nombreux passages sur le lapin (inoculation cérébrale et cornéenne), fut inoculé, le 10 juin, à la cornée de 4 *lapins* : 95-*B*, 96-*B*, 98-*B* et 99-*B*. Voici le résultat des inoculations :

DATES	95 B	96 B	98 B	99 B
13 juin . .	Kératite ++++	Kératite ++++	Panophtalmie.	Kératite ++++
17 — . .	Id.	Id.	Id.	Id.
23 — . .	L'animal tourne la tête.	Id.	Id.	L'animal tourne la tête.
26 — . .	*Mort* (16e jour).	Kératite térébrante.	Vascularisat. de la cornée.	*Mort* (16e jour).
2 juillet. .		Id.	Id.	
7 — . .		Voie de guéris.	Voie de guéris.	
10 — . .		*Guérit.*	*Guérit.*	

Cette expérience prouve que, des quatre lapins inoculés le même jour, avec le même virus, deux sont morts et deux ont survécu, après avoir présenté tous les quatre une kératite intense. Chez les animaux dont l'infection fut mortelle, la mort est survenue le *seizième jour*.

2° Toutes les recherches entreprises avec le virus Blanc (*B*) nous ont montré que *ce virus ne saurait être distingué de celui*

(1) Nous remercions M. Blanc d'avoir bien voulu mettre à notre disposition un échantillon de son virus de l'herpès.

de l'encéphalite; il n'y a, entre les deux germes, qu'une différence de virulence, celui de l'herpès étant d'une activité pathogène moins marquée que celui de l'encéphalite. Même filtrabilité, même conservation dans la glycérine et à l'état sec, même symptomatologie chez les animaux inoculés par la voie oculaire ou cérébrale. De plus, identité absolue en ce qui concerne les lésions histopathologiques. En effet, on décèle, chez les lapins infectés, la méningite à mononucléaires, les manchons périvasculaires et aussi les lésions inflammatoires et la neurophagie, au niveau de la *zone élective*.

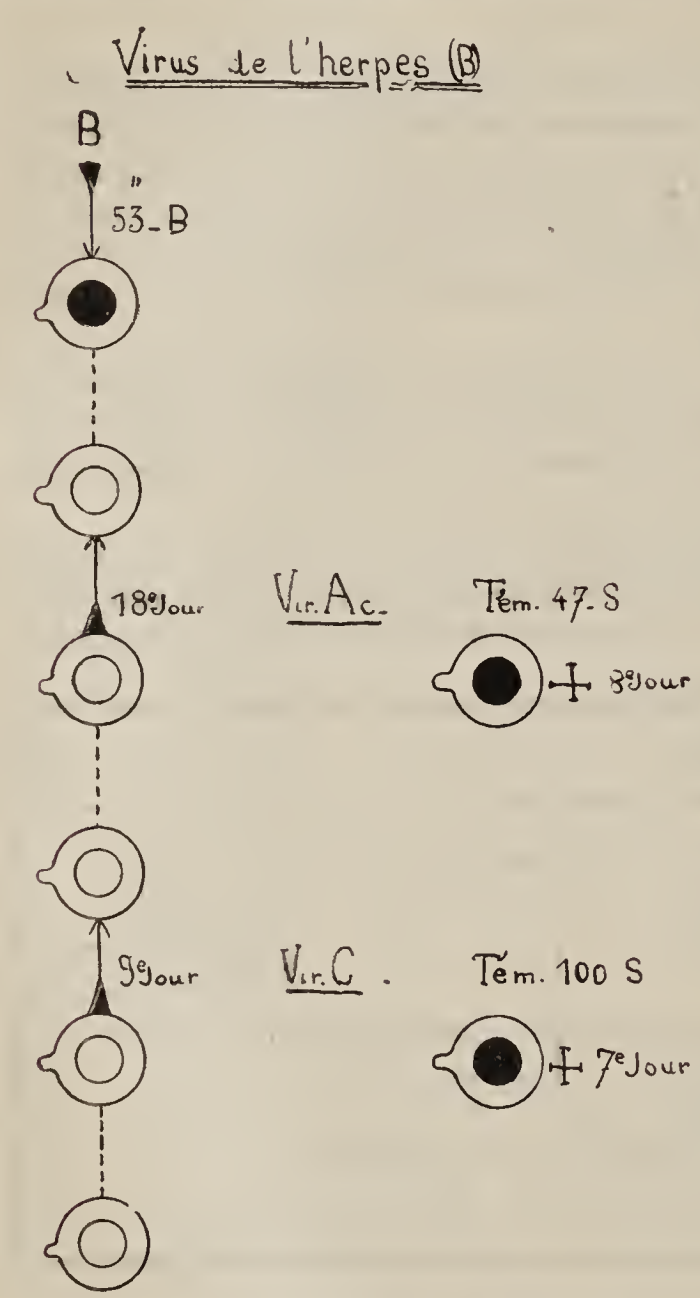


Schéma 9. — *B*, virus de l'*herpès*; *Ac*, *virus salivaire des porteurs*; *C*, *virus encéphalitique fixe.*

* * *

L'identité est prouvée également par des expériences d'*immunité croisée*, dont voici les détails :

Expérience. — *Le virus de l'herpès (B) vaccine la cornée contre le virus fixe de l'encéphalite (C) et le virus des porteurs (Ac).*

Du virus herpétique *B*, conservé à l'état de poudre, est inoculé à la cornée droite du *lapin* 53-*B*. Kératite intense après cinq jours d'incubation. Cette kératite guérit le quinzième jour. *Dix-huit jours* après, scarification de la même cornée avec le virus encéphalitique des *porteurs* (*Ac*); le *lapin* 47-*S* sert de témoin. Ce dernier fait de la kératite et meurt d'encéphalite le huitième jour. Le *lapin* 53-*B* ne réagit pas. Nouvelle inoculation, le neuvième jour, avec le *virus fixe C* (le *lapin* 100-*S* sert de témoin). Le témoin montre une kératite intense et meurt d'encéphalite le septième jour; le vacciné ne réagit pas et survit (schéma 9).

3° *Les animaux dont la cornée est devenue réfractaire, à la suite d'une inoculation de salive kératogène, et qui résistent aux inoculations de tous les virus encéphalitogènes en notre*

possession, se montrent également immuns à l'égard du germe de l'herpès. Ceci résulte des protocoles et des schémas 6, 7 et 8 (voir plus haut).

Le virus de l'herpès et celui de l'encéphalite (salive et cerveau) sont donc de même nature; toutefois, *la virulence du premier est moins accusée que celle du second.* A ce point de vue, le germe herpétique occupe une place intermédiaire entre le virus salivaire kératogène et le virus de l'encéphalite (virus fixe et virus de porteurs); plus actif que le premier, il l'est sensiblement moins que le second.

En effet, *une cornée guérie de la kératite que provoque la salive de virulence moyenne La.... est encore sensible au virus de l'herpès*, ainsi qu'il résulte de l'expérience suivante :

Expérience. — Salive mixte de *La...* inoculée à la cornée droite du *lapin* 76-*M* : kératite intense, guérie le trente-septième jour.

Quarante-deux jours après, scarification de la même cornée avec le *virus herpétique B*; le *lapin* 29-*S* sert de témoin. Ce dernier fait une kératite et meurt d'encéphalite le neuvième jour ; le premier succombe le dixième jour (schéma 10).

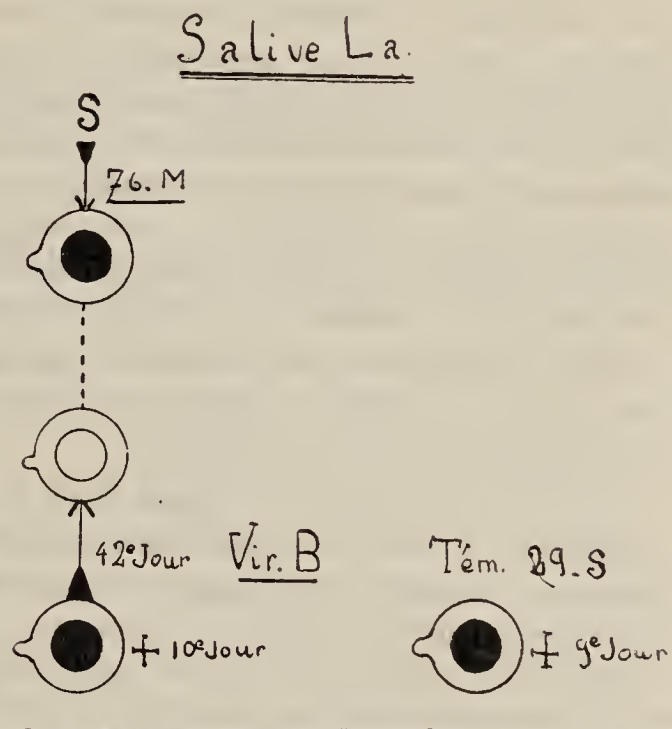


Schéma 10. — *S*, salive de *La*; *B*, virus de l'*herpès*.

Par contre, *le germe de l'herpès est moins virulent que celui de l'encéphalite* (*virus fixe*), même après avoir subi de nombreux passages sur le lapin.

En effet :

1° Ce germe n'est pas constamment mortel pour le lapin, comme l'est celui de la maladie de v. Economo. Nous venons de voir qu'une partie seulement des animaux infectés par voie oculaire succombent d'encéphalite, les autres ne font que de la kératite et sont immuns ultérieurement ;

2° En général, la maladie herpétique évolue plus lentement. La mort, au lieu de survenir du septième au douzième jour, comme dans l'encéphalite provoquée par l'inoculation du *virus*

fixe à la cornée, est sensiblement plus tardive (quinze, dix-huit, vingt jours).

*
* *

L'identité de nature ressort également *de l'affinité du germe herpétique pour la peau.*

Expérience. — *Herpès labial de Ni...* Inoculation du contenu de la vésicule d'herpès à la peau du flanc du *lapin* 11-*B* (procédé de Calmette-Guérin). Le lendemain, la peau est irritée le long des stries de scarification. Le cinquième jour, éruption de petites papules couvertes de squames. Le sixième jour, belle petite éruption d'herpès, qui se dessèche ultérieurement.

2° *Virus de l'herpès B* (après nombreux passages cérébraux et cornéens). Une émulsion cérébrale épaisse, provenant d'un lapin de passage, est inoculée, par le même procédé, au *lapin* 69-*S*. Erythème généralisé dès le lendemain. La peau se desquame quarante-huit heures après. Le septième jour, on constate de nombreuses papules couvertes de croûtes. *Ces papules grossissent manifestement et atteignent, le neuvième jour, les dimensions de petites pustules.* Les lésions cutanées guérissent presque complètement le quinzième jour, mais l'animal succombe le seizième jour, avec des symptômes d'encéphalite. Cultures du cerveau négatives. Son encéphale sert à faire un passage cérébral sur le *lapin* 78-*E*, qui succombe d'encéphalite le cinquième jour, et une inoculation cutanée au *lapin* 74-*E*. Celui-ci réagit localement par une éruption de vésico-pustules.

3° *Virus de l'herpès B* (ayant subi de nombreux passages cérébraux et cornéens). Le *lapin* 75-*E* est inoculé de la même manière que le précédent. Il fait une éruption le sixième jour, qui s'accompagne le septième jour d'une *kérato-conjonctivite bilatérale.* L'animal montre, le treizième jour, des signes de paralysie flasque du train postérieur et succombe le quinzième jour. Cultures du cerveau, négatives. L'encéphale sert à faire un passage cérébral sur le *lapin* 44-*B*, et une inoculation cutanée au *lapin* 38-*B*; le premier meurt d'encéphalite le huitième jour.

Une troisième expérience, disposée de la même manière, a fourni des résultats identiques.

Ces recherches prouvent que, *comme le virus de l'encéphalite, le germe filtrant de l'herpès, provenant directement de l'homme, ou après passages multiples sur le lapin, est doué d'une aniffité cutanée des plus marquées.* A en juger d'après l'intensité et l'évolution des lésions herpétiques, *cette affinité dépasse sensiblement celle du germe encéphalitique.* En d'autres termes, le virus de la maladie de v. Economo, qui produit constamment l'encéphalite, quelle que soit sa voie d'introduction, n'engendre sur la peau que des lésions papulo-squameuses minimes; par contre, le germe de l'herpès, qui

provoque l'encéphalite d'une manière inconstante, détermine des éruptions cutanées sensiblement plus accusées. Il y a donc *une certaine opposition entre l'affinité cutanée* (DERMOTROPE) *et l'affinité cérébrale* (NEUROTROPE) *de ces virus*, suivant le schéma ci-après :

Affinité cutanée		Affinité cérébrale	
Virus encéphalitique. .	+	*Virus encéphalitique.* .	++++
— *de l'herpès.* . . .	++++	— *de l'herpès* . . .	+

CONCLUSIONS. — *Le virus de l'herpès et celui de l'encéphalite épidémique sont de même nature. Le premier n'est qu'une variété moins virulente du second.*

Cette conclusion est d'accord avec celle qui se dégage du travail de Doerr et Schnabel (1). Ces auteurs, sans être trop affirmatifs, admettent, sous toutes réserves, l'identité de nature entre les deux germes, se basant surtout sur des expériences d'*immunité croisée*. De plus, après avoir confirmé nos recherches sur le virus encéphalitique salivaire, ils essaient d'établir des rapports entre la virulence de la salive, au point de vue kératogène, et la prédisposition à l'herpès du sujet soumis à l'examen. Ils constatent que chez les non-prédisposés à l'herpès, le virus ne peut être décelé ni dans la salive, ni dans la sécrétion nasale, ni sur les lèvres. Par contre, la salive est virulente chez ceux qui sont porteurs de vésicules herpétiques, mais nullement d'une façon constante (un essai positif et trois négatifs). Même résultat inconstant chez les individus à peine guéris de leur herpès labial.

Dès le début de nos recherches, notre attention a été attirée sur les rapports possibles entre la virulence de la salive et la prédisposition à l'herpès. Mais nous avons reconnu bientôt que certains sujets, qui font de l'herpès à tout propos, fournissent des salives non kératogènes, tandis que d'autres, qui n'ont jamais eu d'éruption herpétique péribuccale, ont une salive virulente. *Le germe peut donc exister dans une vésicule d'herpès tout en étant absent au moment même dans la salive, comme il peut être présent dans cette salive sans engendrer, pour cela, l'herpès labial.*

(1) DOERR et SCHNABEL. *Schweizerische med. Woch.*, 1921, n° 20 et 24.

X. — Conception étiologique de l'encéphalite épidémique (1).

Les nombreux faits résumés dans les deux chapitres précédents nous autorisent à envisager ainsi *l'étiologie et l'épidémiologie de l'encéphalite épidémique*.

La maladie de v. Economo, quels que soient ses aspects cliniques, est provoquée par un agent filtrant spécifique, l'*ultra-virus encéphalitique*. Cet ultra-virus, de virulence variable, existe :

a) Sous une *forme atténuée*, dans la salive des sujets sains, où il paraît fixé aux cellules épithéliales de la bouche (*affinité exclusivement épithéliotrope*, *pouvoir kératogène exclusif*) ;

b) Sous une forme *plus virulente*, dans les *vésicules d'herpès*. Il offre une *affinité obligatoire épithéliotrope* et une *affinité facultative neurotrope;*

c) Sous une forme *très virulente* dans la *salive des porteurs sains* (*affinité épithéliotrope et neurotrope obligatoires*) ;

d) Sous la même forme *très virulente* dans *les centres nerveux des encéphalitiques* (même affinité que le précédent).

Il est démontré qu'une variété de germe peu virulente, au point de vue de ses affinités cérébrales, peut, par des passages cérébraux successifs, se transformer en une variété capable d'engendrer plus souvent qu'au début des troubles et des lésions d'encéphalite (*Herpès*, Blanc). Cette acquisition d'affinités neurotropes, résultat d'une adaptation progressive à l'axe cérébro-spinal, se retrouve également dans *la vaccine*, comme il résulte des travaux de Marie et de nos propres constatations (voir chapitre XVI).

Dès lors, nous admettrons *qu'avant l'éclosion des épidémies d'encéphalite, le virus de la maladie existait déjà, sous sa forme atténuée, dans la salive et dans certaines manifestations banales, telles que l'herpès ou les angines herpétiques. Par suite d'une exagération progressive, ou plus ou moins brusque de son activité pathogène, le germe à affinité presque exclusivement épithéliotrope acquit une aptitude nouvelle : celle de s'attaquer facilement aux cellules nerveuses du mésocéphale* (AFFINITÉ NEURO-

(1) LEVADITI, HARVIER et NICOLAU. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1921, **85**, p. 213.

TROPE). *Il déclencha ainsi la maladie de v. Economo sous sa forme épidémique, et végéta aussi dans la salive des porteurs de germes. Le virus de l'herpès, le virus salivaire, le virus encéphalitique ne sont, en définitive, que des variantes, à pouvoir pathogène inégal, d'un même germe* : L'ULTRA-VIRUS ENCÉPHALITOGÈNE.

CONCLUSIONS. — Autant que les données expérimentales nous le permettent, nous devons nous représenter ainsi l'*étiologie* et *le mode de propagation de l'encéphalite épidémique* :

Chez certains sujets, la salive renferme un germe filtrant spécifique, dont la virulence varie dans des limites assez larges. Les principales variétés de ce germe se comportent, l'une vis-à-vis de l'autre, comme les variétés plus ou moins pathogènes de certains microbes cultivables, tels le streptocoque, le méningocoque ou le pneumocoque. En dehors des périodes épidémiques, le virus salivaire n'engendre, chez certains sujets, que des troubles passagers, plus ou moins fébriles, sans localisation nerveuse proprement dites (1), tels que l'*herpes labialis*, l'*angine herpétique* ou l'*herpès de la cornée*. Chez d'autres, qui constituent d'ailleurs la majorité, le germe végète dans la salive, sans manifester sa présence par un symptôme quelconque.

A un moment donné, et par suite d'une exagération plus ou moins brusque de sa virulence, le germe salivaire acquiert la propriété de se localiser sur le système nerveux central. D'épithéliotrope qu'il était, il devient plus ou moins neurotrope. Il cherche alors à franchir la barrière que lui oppose la muqueuse naso-pharyngée, pour se diriger vers le névraxe, en suivant les filets nerveux. Si cette barrière fléchit, grâce à une altération inflammatoire banale de la muqueuse, le virus envahit le mésocéphale et provoque la maladie de v. Economo (forme fruste ou typique). Si, au contraire, cette barrière résiste, le microbe continue à végéter dans la salive, et le sujet devient un

(1) Ravaut et Darré ont été les premiers à signaler les altérations du liquide céphalo-rachidien au cours de l'évolution de l'herpès génital (*Gazette des Hôpitaux*, 15 octobre 1903 ; *Annales de Dermatologie*, juin 1904). Récemment, Ravaut et Rabeau ont provoqué des lésions d'encéphalite, en inoculant, sur la cornée des lapins, du liquide céphalo-rachidien d'herpétiques (*C. R. de la Soc. de Biologie*, 1921, **85**, p. 1132).

porteur sain de germes, qui contamine son entourage et assure la propagation de l'infection.

S'il est juste de faire remarquer que les hygiénistes, Netter entre autres, ont déjà soutenu cette idée que la maladie de v. Economo, tout en étant rigoureusement spécifique, n'est pas une infection nouvelle, il faut reconnaître aussi que cette conception est sortie aujourd'hui du domaine de l'hypothèse, puisqu'elle peut être logiquement déduite de constatations expérimentales rigoureuses.

XI. — Immunité et séro-diagnostic.

Dans notre premier mémoire, nous nous sommes occupés surtout de la vaccination active des animaux réceptifs et des propriétés neutralisantes du sérum de convalescents d'encéphalite. Nous envisagerons dans le présent chapitre, *l'immunité acquise, locale et générale, et les divers procédés de séro-diagnostic.*

A. — Immunité acquise. — Les analogies frappantes entre le virus de l'encéphalite et celui de la vaccine, au point de vue des lésions cornéennes et cutanées, nous ont conduits à rechercher si dans la maladie de v. Economo se retrouvent les particularités établies au sujet de l'immunité vaccinale. On sait que la cornée, guérie d'une pustule vaccinale, est, le plus souvent, réfractaire à une seconde inoculation d'épreuve, tandis que la cornée opposée l'est moins, et que la peau ne l'est pas du tout. Inversement, la vaccine cutanée engendre un état réfractaire de la peau, coexistant avec une sensibilité normale de la cornée (Hückel, Paschen, Prowazek, Jurgens, Kraus et Volk, etc.). En est-il de même dans l'encéphalite ?

Nos recherches ont été faites avec tous les virus encéphalitiques en notre possession [virus salivaire, virus des porteurs, virus de l'herpès (Blanc), virus encéphalitique proprement dit]. Ils ont permis d'établir les faits suivants.

a) *La kératite provoquée par le virus salivaire, ou le virus de l'herpès, vaccine la cornée contre une nouvelle inoculation virulente (v. fixe). L'état réfractaire n'est pas seulement local ; il intéresse également le* système nerveux central, attendu que,

lors de l'infection d'épreuve, certains lapins résistent à l'injection du germe dans le cerveau, et que tous survivent, tandis que les témoins, inoculés par la même voie cornéenne, succombent infailliblement.

Les protocoles déjà relatés sont des exemples de cet état réfractaire local et général. L'expérience suivante vient s'ajouter aux précédentes :

Expérience. — *Virus de l'herpès B.* Le *lapin* 96-*Bc* est inoculé à la cornée droite ; il fait une kératite térébrante, qui finit par guérir. *Trente et un jours après*, inoculation cérébrale de 0 c. c. 2 du même virus ; le *lapin* 71-*E* sert de témoin. Ce dernier succombe d'encéphalite le sixième jour ; le premier survit.

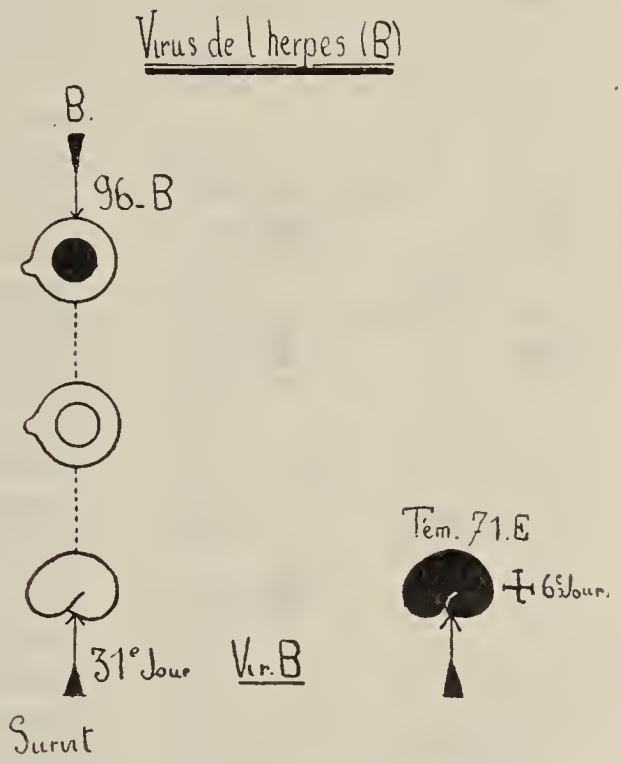


Schéma 11. — B, *virus de l'herpès B.*

Des expériences analogues ont été relatées par Doerr et Schnabel (1). Quelle peut être l'explication de cet état réfractaire du système nerveux central, à la suite d'une kératite qui ne semble pas produire de troubles généraux ? *On ne saurait incriminer les propriétés microbicides du sérum sanguin, étant donné que, d'après nos recherches et les constatations antérieures de Blanc* (2), *ce sérum est dépourvu de telles propriétés.*

Expérience. — Sérum du *lapin* 53-*A*. Ce lapin avait résisté à l'inoculation cornéenne des virus *Ac*, *C* et *B*. Mélange de sérum et de virus *Ac* (émulsion cérébrale, préalablement centrifugée) : 3 volumes de sérum + 1 volume de virus (1) ; 1 volume de sérum + 1 volume de virus (2). Les mélanges sont maintenus quatre heures à 37° et pendant la nuit à la glacière. Inoculation intracérébrale aux *lapins* 57-*E* (mélange 1) et 58-*E* (mélange 2). Tous deux succombent d'encéphalite, le quatrième et le neuvième jour.

En l'absence de toute action neutralisante du sérum, nous sommes conduits à expliquer ainsi l'état réfractaire du névraxe : *il est probable que le virus, déposé sur la cornée, n'y reste pas*

(1) *Loc. cit.*
(2) Blanc. *Loc. cit.*

localisé, mais envahit le nerf optique et atteint l'encéphale; il y détermine une réaction locale insuffisante pour qu'elle se traduise par des troubles apparents, mais assez accusée pour engendrer une immunité des cellules nerveuses. Celles-ci, touchées légèrement une première fois, se montrent réfractaires à une nouvelle attaque de la part du même germe, introduit directement dans le cerveau (1).

b) *La kératite encéphalitique n'engendre pas fatalement l'état réfractaire de la cornée opposée.*

Expérience. — *Virus salivaire La...* Inoculation à *la cornée droite* du *lapin* 55-*O*. Kératite moyenne, qui guérit en dix jours. *Trente jours après*, scarification de la même cornée avec *la salive moins virulente Is...* (le *lapin* 49-*B* sert de témoin). Ce dernier fait une kératite intense, le premier ne réagit pas. Nouvelle scarification de la même cornée avec le virus de l'*herpès B*; on se sert du *lapin* 2-*S* comme témoin. Kératite intense chez ce dernier et mort de l'animal le quinzième jour; *réaction cornéenne chez le vacciné*, qui disparaît le quinzième jour. *Vingt jours après*, réinoculation de la même cornée avec du *virus encéphalitique de passage* (témoin : *lapin* 100-*S*). L'animal vacciné ne réagit pas; le témoin fait une kératite et meurt d'encéphalite le septième jour. *Dix jours après*, essai de la *réceptivité de la cornée opposée* : on inocule à la *cornée gauche* du *lapin* 55-*O* du virus de l'*herpès B*; même inoculation au témoin 72-*E*. Les deux animaux font une kératite intense, qui guérit en vingt-deux jours chez le premier, en vingt-six jours chez le second (schéma 12).

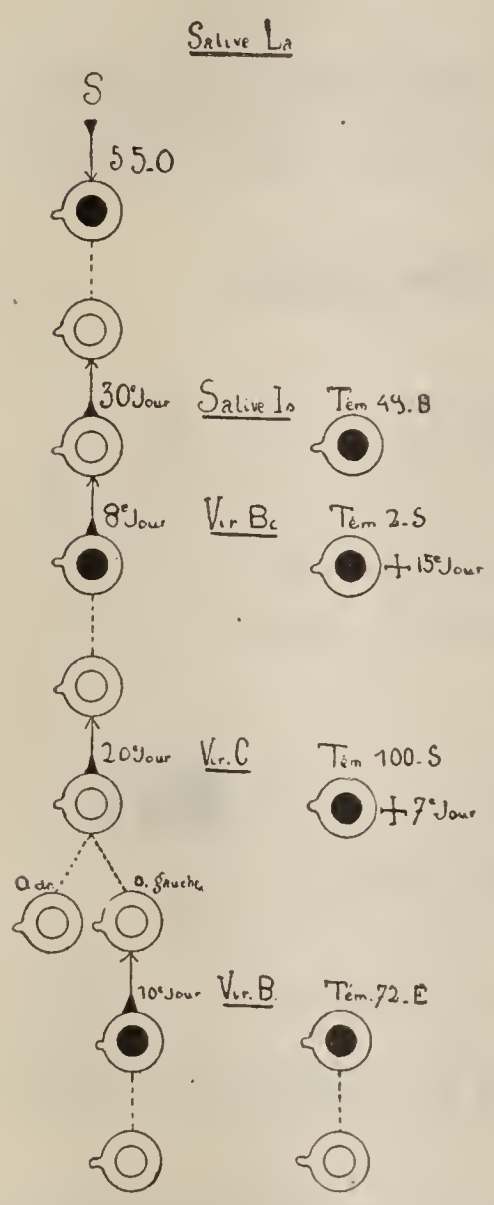


Schéma 12. — S, salive de *La*; *Is*, salive de *Is*; *B*, *virus herpétique B*; *C*, *virus encéphalitique de passage.*

Cette expérience montre :

1° que la *salive La... a vacciné la cornée contre une salive moins virulente Is.... mais non pas contre le germe plus virulent de l'herpès B;*

2° *que la même cornée, guérie de la kératite herpétique, a résisté à une scarification avec le* virus encéphalitique de passage;

(1) Des recherches nouvelles (Levaditi et Nicolau, *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1921, **173**, p. 794; *C. R. de la Société de Biologie*, séance du 5 février 1922) ont confirmé cette hypothèse.

3° *que malgré cette immunité de la cornée droite, la cornée gauche est restée sensible au virus de l'herpès B.*

L'immunité d'une cornée n'entraîne donc pas forcément celle de la cornée opposée. Cette conclusion est d'accord avec celle formulée par Löwenstein (1), à la suite de ses recherches sur le virus de l'herpès. Il est vrai que, d'après Doerr et Schnabel (2), la cornée opposée finit par se vacciner à son tour; mais nous n'avons pas eu l'occasion de vérifier cette affirmation.

c) *L'état réfractaire acquis de la cornée ne détermine pas un état semblable de la peau.*

Expérience. — *Lapin* 86-*O* (voir protocole, et schéma 2 et 13). Ce lapin avait fait une kératite salivaire (*salive La...*) et s'était montré réfractaire à l'égard d'une seconde inoculation cornéenne de la salive moins virulente *Is. Huit jours après*, on scarifie la même cornée avec le virus herpétique *B*; le *lapin* 2-*S* sert de témoin. Ce dernier fait de la kératite et succombe d'encéphalite le quinzième jour. *Lésion cornéenne chez le lapin* 86-*O*; mais survie de l'animal.

Vingt-jours après, nouvelle scarification avec le *virus encéphalitique de passage C* (témoin : *lapin* 100-*S*). Kératite chez le témoin, qui meurt le septième jour; petite réaction locale chez le vacciné 86-*O*. Dix jours après, on apprécie la *réceptivité cutanée*, en scarifiant la peau de l'animal avec le *virus herpétique B*; le *lapin* 75-*E* sert de témoin. *Belle éruption de papules chez les deux animaux* (schéma 13).

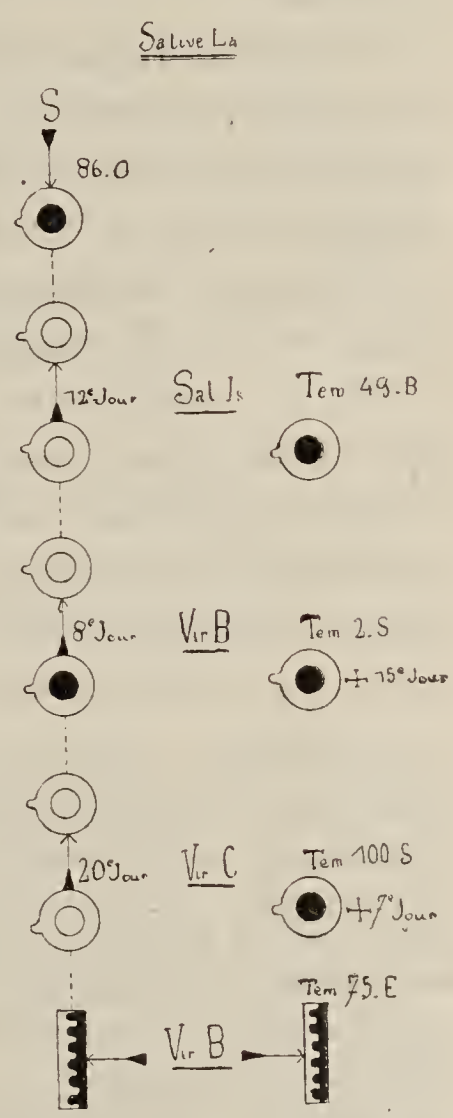


Schéma 13. — *La*, salive de *La*; *Is*, salive de *Is*; *B*, *virus herpétique B*; *C*, *virus encéphalitique de passage.*

Conclusions. — *L'état réfractaire acquis de la cornée peut ne pas entraîner un état analogue, ni du côté de la cornée opposée, ni du côté de la peau. L'immunité cérébrale acquise à la suite de l'infection cornéenne paraît rentrer dans le cadre des immunités tissulaires locales.*

B. — Pouvoir neutralisant du sérum. Essai de sérothérapie et de séro-diagnostic. — 1° Nous avons répété, à plusieurs

(1) *Loc. cit.*
(2) *Loc. cit.*

reprises, nos expériences antérieures concernant le pouvoir neutralisant du sérum de convalescents d'encéphalite (1). La méthode employée fut la même (mélanges *in vitro*, inoculation de ces mélanges par la voie cérébrale, ou dans la chambre antérieure de l'œil). Les résultats ont été identiques : *léger retard dans la mort des animaux qui avaient reçu les mélanges de sérums de convalescent et de virus, mais pas de neutralisation complète.*

2° *Kérato-diagnostic.* — Les résultats sont sensiblement plus nets, lorsqu'on apprécie le pouvoir neutralisant des sérums en pratiquant les inoculations à *la cornée*, au lieu de les faire dans le cerveau, ou dans la chambre antérieure de l'œil. A la condition de mélanger deux volumes de sérum à un volume de virus et de maintenir le contact pendant cinq heures, à 37°, on saisit nettement la différence entre un sérum normal et un sérum spécifique. *L'animal, inoculé à la cornée avec le mélange virus+sérum de convalescent, ne présente aucune kératite, ou ne réagit que faiblement, tandis que le lapin inoculé avec le mélange virus+sérum normal est atteint de kératite intense et meurt d'encéphalite.* En voici des exemples :

Expérience I. — Sérum de *Mlle Lean...* forme parkinsonienne. Émulsion de *virus fixe C*, préalablement centrifugée. Mélange de virus, de sérum de convalescent et de sérum humain normal, à volumes égaux. Contact pendant cinq heures à 37°. Le mélange virus + *sérum L* est inoculé à la cornée du *lapin* 47-*O* ; le mélange virus + *sérum normal*, au *lapin* 48-*O*. Le premier fait une légère conjonctivite, non accompagnée de kératite, qui guérit le huitième jour; le second montre une kératite intense et succombe d'encéphalite le onzième jour.

Expérience II. — Sérum *Caus...* Encéphalite léthargique en mars 1920. Forme parkinsonienne actuellement.

Mélange : 2 volumes sérum + 1 volume *virus fixe C*. Même dispositif expérimental. Le *lapin* 47-*B* reçoit le mélange virus + sérum de *Caus*, le *lapin* 48-*B*, le mélange virus + sérum humain normal. Le premier ne réagit pas et meurt le vingt-cinquième jour, sans lésions d'encéphalite ; le second fait de la kérato-conjonctivite et succombe d'encéphalite le quinzième jour (passage positif, lésions typiques).

Expérience III. — *Sérum Droc...*

Même dispositif expérimental. Le mélange sérum *Droc...* + virus est inoculé à la cornée du *lapin* 1-*M*, le mélange témoin à la cornée du *lapin* 2-*M*.

(1) Cas : *Rond...* Encéphalite à forme parkinsonienne, malade depuis le 10 janvier 1920; prise du sérum le 30 décembre 1920.

Leind... Encéphalite à forme parkinsonienne; malade depuis le 8 janvier 1920; prise de sérum le 4 janvier 1921.

Le premier ne réagit pas ; le second fait de la kératite et meurt d'encéphalite le treizième jour (lésions typiques).

Expérience IV. — *Sérum Cha... Paralysie faciale, cas douteux.* Les deux lapins inoculés, nos 3-*M et* 4-*M*, font de la kératite et meurent d'encéphalite le dixième et le douzième jour.

Résultat négatif.

Plusieurs autres essais ne nous ont pas fourni des résultats satisfaisants, en ce sens que ni l'animal inoculé avec le mélange spécifique, ni le lapin témoin n'ont contracté la kératite. Ceci est dû, fort probablement, à ce que la technique du *kératot-diagnostic* demande à être perfectionnée. Il est nécessaire de bien doser les quantités respectives de sérum et de virus, si l'on veut éviter un échec complet de l'expérience. De nouvelles recherches montreront sans doute la valeur pratique de ce procédé.

Quoi qu'il en soit, nos expériences actuelles complètent les anciennes, en montrant que la *formation d'anticorps spécifiques, au cours de l'encéphalite épidémique, est loin d'égaler en intensité celle que l'un de nous a mis en évidence avec Landsteiner et Netter, dans la poliomyélite.*

3° *Immun-sérum de mouton.* — Nous avons entrepris la vaccination de trois moutons en vue de la préparation d'un sérum spécifique. Les animaux ont reçu, à plusieurs reprises, par la voie sous-cutanée, des émulsions cérébrales riches en virus fixe. Le sérum nous a servi à des expériences de neutralisation *in vitro* et de sérothérapie préventive et curative. *Tous les essais de sérothérapie*, faits d'après des méthodes diverses (inoculation du sérum dans les veines, sous la peau, dans le cerveau) *nous ont fourni des résultats négatifs.* Nous croyons inutile d'exposer ici le protocole de ces expériences. Le sérum n'a pas agi non plus *en application sur la cornée*, avant ou après l'éclosion de la kératite encéphalitique. Il ne s'est montré actif qu'en mélange *in vitro*, dans des expériences disposées comme celles qui viennent d'être décrites (inoculation des mélanges à la cornée ou dans la chambre antérieure de l'œil).

Ajoutons que *la réaction de Bordet et Gengou*, faite avec le sérum des moutons vaccinés, nous a donné des résultats nettement positifs. Les réactions obtenues avec le sérum spécifique, en présence d'une émulsion cérébrale virulente servant

d'antigène, ont été plus intenses qu'avec le même sérum et un antigène normal (cerveau de lapin neuf).

XII. — Contagion spontanée expérimentale.

Des expériences de contagion ont été réalisées en vue de préciser les conditions qui président à la propagation de la maladie. Elles ont été disposées de la manière suivante :

1° *Essais de contagion de cage.* — Le *lapin* 34-*M* est infecté par la voie nasale, avec du virus encéphalitique fixe (deux badigeonnages, à vingt-quatre heures d'intervalle). Le *lapin neuf* 27-*M* est placé dans la même cage. Le premier animal succombe d'encéphalite le douzième jour (lésions typiques intenses). *Le second ne contracte pas la maladie et survit.*

2° *Cage infectée.* — On badigeonne les parois d'une petite cage métallique avec une émulsion cérébrale virulente. Le *lapin* 3-*O* est introduit dans la cage infectée et maintenu pendant toute la durée de l'expérience. *Il y reste trente-cinq jours et ne contracte pas l'encéphalite.*

Ces expériences montrent *qu'il n'est pas aisé de transmettre l'encéphalite par voie de contagion naturelle.*

Nous avons cependant observé *un cas de contagion spontanée* qui ne laisse aucun doute. En voici les détails :

Expérience. — Le *lapin* 3-*B* avait été inoculé dans le cerveau, avec la matière cérébrale d'un autre *lapin* 75-*O*, qui avait succombé à une inoculation cranienne de *virus vaccinal* (voir chap. XVI). Le *lapin* 3-*B* montre, après une incubation de *vingt-deux jours*, des signes de paralysie du train postérieur et meurt (*il avait vécu dans une cage où il y avait eu auparavant des animaux atteints d'encéphalite*). Cultures du cerveau négatives, lésions de méningite à mononucléaires au niveau du cortex et le long des septa, pas d'altérations bien nettes d'encéphalite. Le cerveau sert à faire une série des six passages successifs. Les animaux inoculés succombent du quatrième au cinquième jour et montrent des altérations typiques d'encéphalite (lésions caractéristiques de la zone élective). A chaque passage, l'encéphale est utilisé pour infecter un lapin par scarification à la cornée, par injection testiculaire et par badigeonnage cutané (méthode de Calmette-Guérin). Les lapins ainsi infectés font de la kératite, mais *ne montrent ni orchite, ni éruption pustuleuse de la peau, ressemblant à la vaccine*; ils succombent d'encéphalite le dix-neuvième, le douzième et le treizième jour.

Le *lapin* 3-*B* est donc mort à la suite d'une infection par un virus qui ressemble fort à celui de l'encéphalite. L'identité entre les deux germes est prouvée par l'expérience suivante :

a) Un *lapin* 74-*B*, *guéri d'une kératite vaccinale*, est infecté par la voie cornéenne avec le virus du *lapin* 3-*B* ; il contracte une nouvelle kératite et succombe d'encéphalite le dixième jour. *Le virus de la vaccine n'immunise donc pas contre le virus du lapin* 3-*B*.

b) Un *lapin* 71-*S*, guéri d'une kératite provoquée par le virus suspect du *lapin* 3-*B*, est inoculé à la même cornée avec de la vaccine (passage testicu-

laire); il contracte une belle kératite vaccinale. *Le germe du lapin 3-B n'immunise donc pas contre le virus vaccinal.*

c) Un *lapin* 53-*B*, guéri d'une kératite engendrée par le virus de l'*herpès B*, est inoculé, en même temps qu'un lapin *témoin* 77-*E*, par la voie cornéenne avec le virus suspect du *lapin* 3-*B*. Le premier ne réagit pas, le second fait de la kératite et meurt d'encéphalite le huitième jour. *Le virus de l'herpès vaccine contre le germe du lapin* 3-*B* (schéma 14).

Il en résulte que le *lapin* 3-*B* a contracté l'encéphalite provoquée par un virus dont l'identité avec les germes du groupe encéphalitique ne laisse aucun doute. *C'est là l'unique*

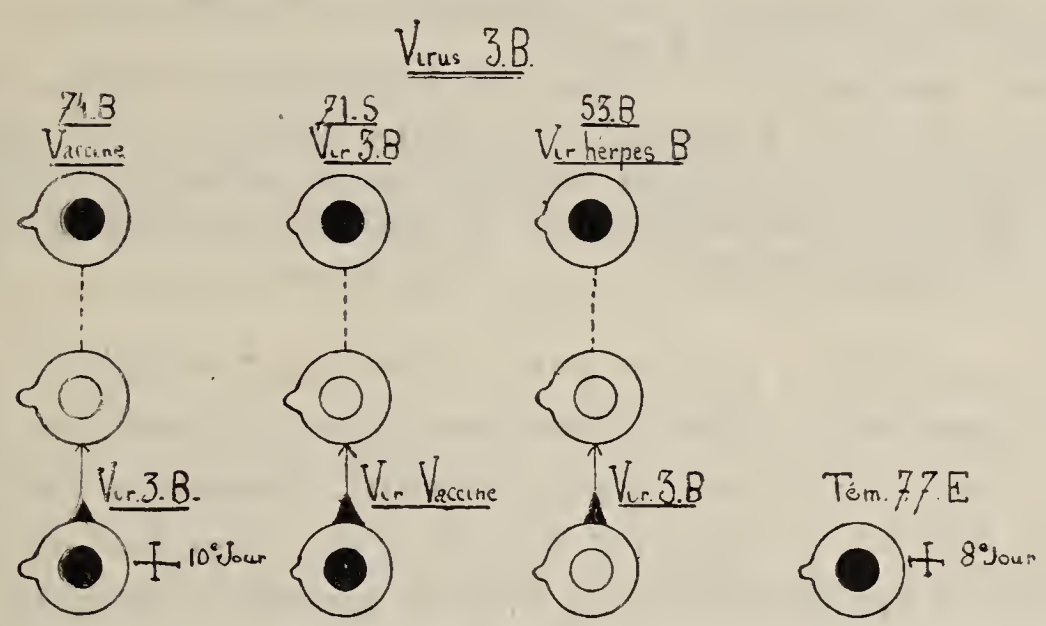


Schéma 14.

Virus 3-B = Virus suspect du lapin 3-B. — Virus vaccine — Virus vaccinal.
Virus B = Virus de l'herpès B.

exemple de contagion spontanée que nous ayons enregistré, parmi les centaines de lapins ayant servi à nos recherches.

Conclusions. — *La contagion spontanée de cage est difficile à réaliser. Les cas de contamination sont excessivement rares dans l'encéphalite expérimentale.*

XIII. — Transmission héréditaire de l'encéphalite épidémique.

Nous avons constaté que *le virus de l'encéphalite épidémique est transmissible chez le lapin, de la mère au fœtus* (1).

Expérience. — La *lapine pleine A* 34-*A* reçoit, dans la chambre antérieure de l'œil, un mélange de virus fixe et de sérum normal de mouton. Elle meurt d'encéphalite (lésions cérébrales typiques) le onzième jour. On trouve, à la nécropsie, neuf fœtus de 10 à 12 cm., dont on extrait aseptiquement les

(1) Levaditi, Harvier et Nicolau. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **84**, p. 957.

organes. On prélève également le placenta et un fragment de la glande mammaire, laquelle contient du lait. Le cerveau de la mère, la glande mammaire, le placenta, le cerveau d'un des fœtus, ainsi que le foie du même fœtus, servent à préparer des émulsions, qui sont inoculées directement dans le cerveau de lapins neufs, à la dose de 0 c. c. 2.

1° *Cerveau de la mère* : *lapin* 74-*A*, meurt d'encéphalite le quatrième jour (lésions typiques).

2° *Glande mammaire*: *lapin* 75-*A*, meurt le sixième jour (lésions caractéristiques). Passage positif sur le *lapin* 14-*O* (encéphalite le sixième jour).

3° *Placenta* : *lapin* 72-*A*, meurt le cinquième jour (lésions typiques). Passage positif sur le *lapin* 9-*O* (encéphalite le quatrième jour).

4° *Cerveau du fœtus* : *lapin* 76-*A*, meurt le neuvième jour (lésions typiques). Passage positif sur le *lapin* 34-*O* (encéphalite le quatrième jour).

5° *Foie du fœtus* : *lapin* 73-*A*, survit.

L'examen histologique des organes du fœtus montre l'absence de toute lésion d'encéphalite (hémorragies cérébrales discrètes), une hyperémie intense du foie, sans altérations dégénératives ou inflammatoires (présence de très nombreux mégacaryocytes) et l'intégrité complète du rein. Le placenta est d'aspect normal.

Cette expérience prouve que *le virus de l'encéphalite épidémique traverse le filtre placentaire pour se localiser, chez le fœtus, dans le système nerveux central*. Il nous a été impossible de déceler sa présence dans le foie, cependant qu'il existait dans le placenta et aussi dans la glande mammaire. Cette dernière constatation laisse entrevoir la possibilité de l'élimination du germe par le lait et rend probable la contamination des rejetons par l'ingestion du lait, provenant de mères contaminées. Cette hypothèse est d'autant plus plausible que nous avons démontré ailleurs (voir chapitre V) la conservation prolongée (pendant près de cent jours) du virus encéphalitique dans le lait stérilisé.

Le virus encéphalitique peut être présent dans le cerveau du fœtus, sans y engendrer de lésions caractéristiques d'encéphalite. On peut supposer que cette absence de réactions inflammatoires et dégénératives est due soit à l'état de développement incomplet du tissu cérébral chez le fœtus, soit à la pénétration tardive du germe dans le cerveau du rejeton, très peu de temps avant la mort de la mère, soit à ces deux facteurs réunis. Rappelons que la transmission héréditaire de l'encéphalite, chez l'homme, a été observée par Novaes et Sousa (1) et par Harris.

(1) Sousa, cité d'après Jorge, *Off. intern. d'Hygiène publique*, 1920, **12**, fasc. 12.

XIV. — Encéphalite et rage.

Les analogies entre la rage et l'encéphalite nous ont conduits à rechercher *si le virus rabique, inoculé par scarification à la cornée du lapin, provoque une kératite semblable à celle engendrée par le germe de l'encéphalite.* Voici nos constatations :

1° *Le virus rabique fixe, inoculé par scarification à la cornée du lapin, confère la rage* (Feran), *sans engendrer de kératite.*

Expérience. — Les *lapins* 27-*O et* 25-*O* sont inoculés à la cornée droite avec du virus rabique fixe. Ils se paralysent le onzième jour et meurent de la rage le douzième, sans avoir présenté de kératite. Le cerveau du *lapin* 25-*O* sert à faire un passage cérébral sur le *lapin* 67-*O*, qui meurt de rage le onzième jour.

2° *Le virus rabique des rues, inoculé par scarification à la cornée du lapin, donne la rage.*

Expérience. — Virus d'*origine humaine* (*Bre...*, rage le 21 novembre 1920), conservé jusqu'au 8 juin 1921, dans la glycérine. Ce virus avait subi un passage sur le lapin. Une émulsion de cerveau glycériné est injectée au *lapin* 75-*B*, par voie cérébrale, et au *lapin* 76-*B*, par voie cérébrale et *cornéenne*. Les deux animaux meurent de rage le dixième jour ; *absence de kératite chez le lapin* 76-*B*, mais conjonctivite bilatérale. Le cerveau du *lapin* 76-*B* sert à scarifier la cornée droite des *lapins* 33-*S et* 34-*S* ; les deux animaux meurent de rage le quatorzième et le treizième jour, sans avoir présenté de kératite.

3° *Il est possible de transmettre la rage en série en inoculant, à la cornée d'un lapin neuf, des produits prélevés sur la cornée d'un autre lapin rabique* (infecté lui-même par la voie cornéenne).

Douze jours après l'inoculation du *lapin* 33-*S* (voir plus haut), alors que cet animal était atteint de rage, on racle sa cornée droite, *absolument transparente*, et on inocule le produit du raclage à la cornée du *lapin* 36-*E*. Après une incubation de douze jours, ce dernier animal montre des symptômes rabiques. Le lendemain, on constate chez lui des *stries blanches* sur la cornée droite, un œdème de la conjonctive et de la sécrétion conjonctivale ; même œdème à l'œil gauche, mais non accompagné de trouble de la cornée. Le lapin est sacrifié le treizième jour. Son cerveau sert à faire un passage cérébral sur le *lapin* 98-*E*, qui meurt de rage le neuvième jour. En même temps, on fait un prélèvement cornéen, que l'on inocule par scarification à la cornée du *lapin* 97-*E*. Ce dernier contracte la rage le douzième jour,

montre de la conjonctivite les jours suivants, et succombe le seizième jour (1) (schéma 15).

Une autre expérience, faite en inoculant à la cornée du *lapin* 99-*E* le cerveau rabique du *lapin* 36-*E*, a fourni un résultat identique (l'animal est mort de rage le douzième jour).

Ces expériences prouvent que *le virus rabique (fixe ou des rues), de provenance cérébrale, inoculé à la cornée du lapin, confère la rage, sans engendrer de kératite pendant toute la durée de la période d'incubation.*

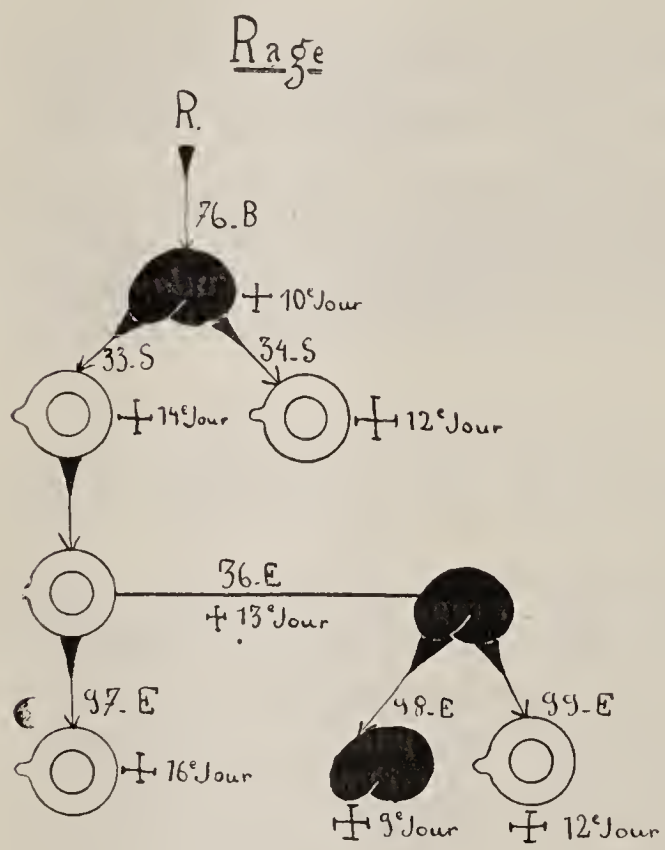


Schéma 15.

Ce virus se greffe sur l'épithélium de la cornée, y cultive, et cependant sa présence ne se dévoile par aucune réaction locale visible. Il y persiste longtemps, puisque la cornée, absolument transparente, fournit, dès l'apparition des phénomènes rabiques, du virus inoculable à des animaux neufs (par la même voie cornéenne). On ne constate une certaine *réaction locale* qu'après le début de la rage paralytique. Il apparaît alors de la conjonctivite et une légère infiltration de la cornée, qui se traduit histologiquement par les altérations suivantes :

Coupes de la cornée du lapin 36-*E*. — Desquamation épithéliale mécanique (épithélium enlevé par le raclage), vacuolisation de certaines cellules épithéliales, kératite interstitielle au début, infiltration de la cornée par de rares polynucléaires, accumulés surtout dans la zone sous-épithéliale. Conjonctivite aiguë.

Conclusion. — *La rage peut être transmise en série chez le lapin, par inoculation de cornée à cornée. Contrairement au virus encéphalitique, le virus de la rage confère la maladie*

(1) Les passages cornéens ont été continués ; ils se sont arrêtés au troisième.

sans provoquer de kératite bien manifeste. Le germe rabique offre une affinité épithéliotrope marquée.

XV. — Encéphalite et poliomyélite.

Nous avons insisté, dans notre premier Mémoire, sur les analogies et les différences entre le germe de l'encéphalite et celui de la poliomyélite. Nous relatons ici des expériences faites avec le virus poliomyélitique, suivant le plan qui a servi aux essais qui viennent d'être exposés à propos de la rage (voir le chapitre précédent).

Il est impossible de conférer la poliomyélite au singe et au lapin en inoculant le virus poliomyélitique de passage, A LA CORNÉE. Cette inoculation n'est suivie, d'ailleurs, d'aucune réaction locale.

EXPÉRIENCE. — 1° Virus poliomyélitique conservé dans la glycérine. Inoculation intracérébrale au *Mac. cynomolgus n°* 13. L'animal est paralysé le septième jour et succombe de poliomyélite le huitième jour. Son cerveau sert à préparer une émulsion épaisse, que l'on inocule à la cornée du *Mac. cynomolgus n°* 10. L'animal ne montre aucune réaction locale et survit. Il est cependant sensible au virus poliomyélitique, puisque, injecté par voie cérébrale avec ce virus, il se paralyse et succombe le sixième jour.

2° Le cerveau de ce singe sert à inoculer, par la même voie cornéenne, le *Mac. cynomolgus n°* 12. L'animal survit sans avoir montré de réaction locale.

3° On inocule avec le même cerveau la cornée droite des *lapins* 83-*O et* 88-*O*. Légères stries visibles le lendemain, mais aucune kératite les jours suivants. Les animaux survivent.

CONCLUSION. — Ces expériences montrent *que le virus de la poliomyélite, contrairement aux virus rabique et encéphalitique, n'offre aucune affinité pour l'épithélium cornéen.*

XVI. — Affinités neurotropes du virus de la vaccine.

Il était nécessaire, pour l'étude comparative des divers ultra-virus neurotropes (groupe encéphalitique, rage, poliomyélite), que nous entreprendrons dans le chapitre suivant, d'examiner le virus de la vaccine, au point de vue de ses affinités pour le système nerveux central. Nous résumons ici les faits établis à ce sujet :

A. Marie, dans une note présentée l'an dernier à la *Société*

de Biologie (1), a montré que le virus vaccinal frais, introduit dans le cerveau du lapin, engendre une maladie mortelle, évoluant en quelques heures. L'encéphale et la moelle épinière des lapins infectés sont virulents pour d'autres animaux de la même espèce (possibilité de transmission en série). Le germe existe dans le filtrat de cerveau. Après avoir pullulé dans le système nerveux central, il est encore capable de provoquer une kératite vaccinale, *mais il a perdu sa virulence pour la peau* (2).

Il résultait de ce travail que le germe filtrant de la vaccine possède une certaine affinité pour le cerveau, en plus de celles qu'il a pour la cornée, le revêtement cutané et le testicule [orchite vaccinale, Henseval (3), Noguchi (4)].

Nous avons entrepris la vérification des données publiées par A. Marie et sommes arrivés aux conclusions suivantes :

Expérience. — Le 6 mai, nous inoculons dans le cerveau de deux *lapins* 5-*O et* 8-*O* de la pulpe vaccinale ; un troisième *lapin* 7-*O* reçoit la même pulpe dans le testicule et, après scarification, à la cornée. Les deux premiers animaux survivent, le troisième montre une kératite et une orchite vaccinales intenses. Le testicule de ce *lapin* 7-*O* fut le point de départ de toutes nos expériences ultérieures, qui durent encore à l'heure actuelle. Le virus vaccinal testiculaire fut d'abord inoculé dans le cerveau d'un animal neuf, sans déterminer aucun trouble apparent, puis (après avoir subi un nouveau passage testiculaire), dans l'encéphale des *lapins* 76-*O et* 75-*O*. Ces derniers succombèrent avec des signes de paralysie, l'un le quatrième jour, l'autre le sixième jour (cultures stériles). Or, l'émulsion cérébrale du *lapin* 75-*O* fut capable de provoquer une *orchite* chez le *lapin* 2-*B*. Le virus, puisé dans le testicule de ce *lapin* 2-*B*, se montra virulent par inoculation cérébrale pour deux animaux (morts en cinq jours). A son tour, l'émulsion cérébrale de ces lapins, inoculée par la même voie aux *lapins* 33-*B et* 50-*B*, provoqua la mort après six et huit jours d'incubation (deuxième passage). Un troisième passage cérébral resta toutefois *négatif*, malgré la présence du virus vaccinal dans le cerveau des *lapins* 33-*B et* 50-*B*.

En partant de l'orchite vaccinale d'un *lapin* 56-*E*, nous avons réussi à réaliser quatre passages consécutifs, de cerveau à cerveau (mort des animaux du cinquième au sixième jour). Chaque fois, le cerveau de ces lapins s'est montré capable de provoquer l'éruption vaccinale cutanée (fig. 1), la kératite et l'orchite.

Cette expérience montre que le virus vaccinal (sous forme de pulpe vaccinale) inoculé directement dans le cerveau, n'est

(1) A. Marie. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 17 avril 1920.

(2) Cette dernière constatation nous a été communiquée verbalement par A. Marie.

(3) Henseval. *Bull. de l'Acad. Royale de Belgique*, séance du 24 septembre 1910.

(4) Noguchi. *Journ. of. experim. Med.*, 1915, **21**, p. 539.

Fig. 1. — *Éruption vaccinale de la peau chez un lapin inoculé avec du virus cérébral.*

pas toujours pathogène; par contre, dès qu'il a subi un ou plusieurs passages testiculaires, il engendre une maladie mortelle chez les lapins infectés par voie cérébrale.

1° Cette maladie est déterminée par le virus de la vaccine, puisque les cultures du cerveau, pratiquées sur les milieux habituels, restent stériles, et que *le virus peut être mis en évidence dans le cerveau, avec toutes ses propriétés.* En effet, avec l'encéphale d'un lapin de deuxième passage, il nous a été

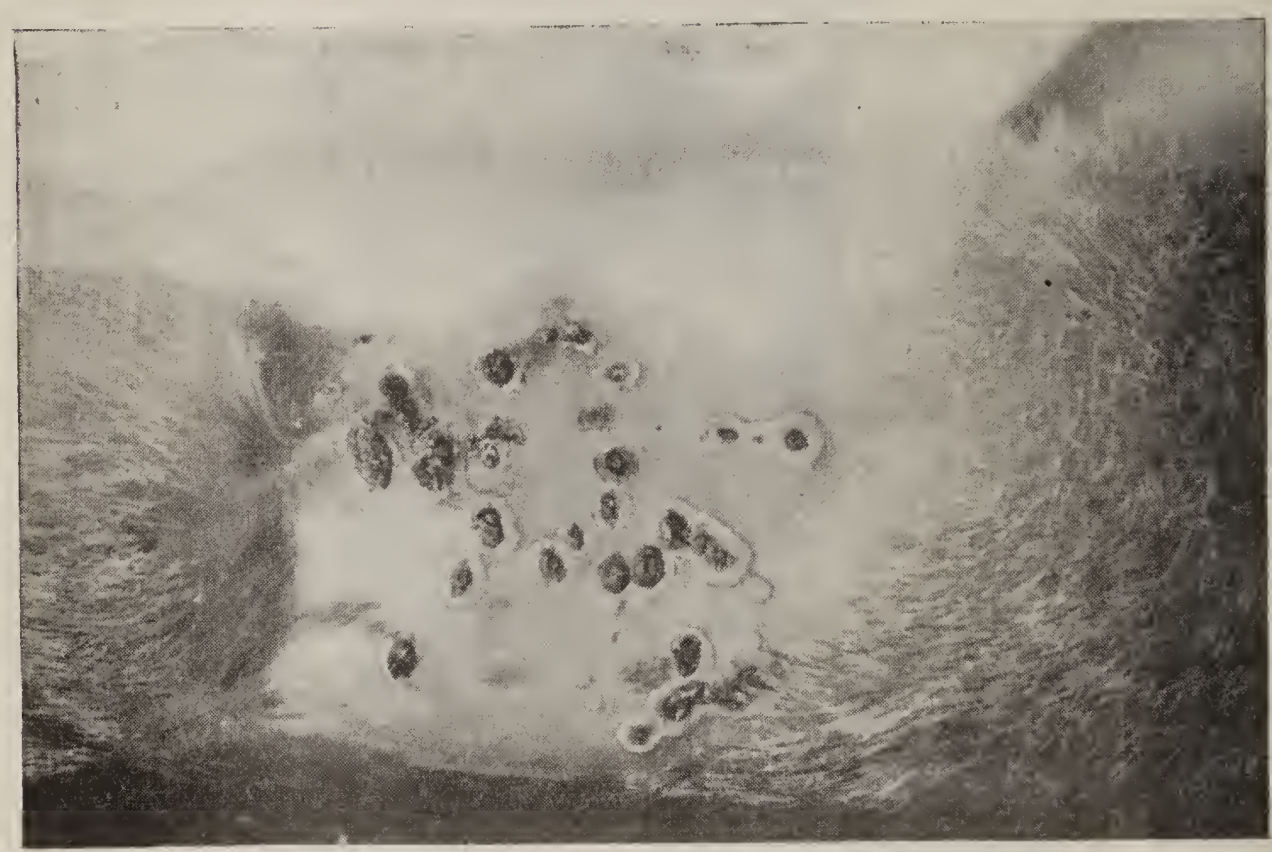


Fig. 2. — *Éruption vaccinale de la peau chez un lapin inoculé avec du virus cérébral.*

possible d'engendrer non seulement la kératite et l'orchite vaccinales, *mais aussi une très belle éruption de pustules cutanées* (procédé de Calmette et Guérin) (v. fig. 1 et 2). De plus, l'émulsion de ce cerveau provoque une kératite chez un animal vacciné contre l'un ou l'autre des virus encéphalitiques en notre possession ; inversement, le germe de l'encéphalite se montre pathogène pour les animaux guéris de la kératite vaccinale (expériences d'*immunité croisée*).

2° Contrairement à l'encéphalite expérimentale du lapin, l'encéphalite vaccinale ne peut pas, au début, être transmise indéfiniment en série, par passages exclusivement cérébraux. Le virus semble nécessiter de temps en temps une vivification

préalable par culture testiculaire, avant de récupérer sa virulence pour l'encéphale, perdue au bout de quelques passages cérébraux.

3° Il s'agit bien d'une encéphalite, ainsi que le prouve l'examen histologique des centres nerveux des animaux inoculés dans le cerveau. Les lésions intéressent la dure-mère, la pie-mère et l'écorce cérébrale. Au niveau de la dure-mère, il se forme une véritable pustule vaccinale, qui provoque l'adhérence de la membrane aux méninges séreuses et au cerveau. Histologiquement, on constate, à ce niveau, une accumulation de polynucléaires (çà et là de véritables *cellules géantes*). La pie-mère montre une méningite à mononucléaires, à disposition périvasculaire nette, altération que l'on retrouve le long des *septa*. Enfin, il existe des ébauches de manchons périvasculaires et des signes d'encéphalite aiguë à polynucléaires. Toutefois, ces altérations n'intéressent jamais la « zone élective », si constamment atteinte dans l'encéphalite expérimentale, et il y a *absence totale de lésions des cellules nerveuses*, *rappelant la neuronophagie*. (C. f. planche II, fig. 1, 2, 4, 6, 7 et 10.)

Ajoutons que le germe vaccinal peut également être décelé dans le cerveau des lapins infectés exclusivement par voie oculaire et testiculaire (mais en plus petite quantité).

Conclusions. — En résumé, *le virus de la vaccine peut se cultiver dans le cerveau du lapin*, d'une manière moins constante cependant que ne l'admet Marie (1). Par rapport au germe de l'encéphalite, le virus vaccinal offre, au début, une *affinité neurotrope intermittente* et non pas *obligatoire*. Tandis que l'ultra-virus encéphalitique (encéphalite, herpès, porteurs) se greffe aisément sur la cornée (Levaditi, Harvier et Nicolau), sur la peau (mêmes auteurs) et surtout sur le cerveau, celui de la vaccine ne s'adapte que difficilement au milieu cérébral. Des recherches ultérieures montreront si, par suite de nombreux passages alternants de testicule à cerveau et inver-

(1) Marie a réussi onze passages consécutifs de cerveau à cerveau. La différence entre ses résultats et les nôtres peut tenir à l'origine du virus vaccinal employé de part et d'autre.

sement, il sera possible de conférer au germe vaccinal une affinité neurotrope constante (1).

XVII. — Comparaison entre les divers virus neurotropes. Ectodermoses neurotropes (2).

Nous avons étudié, dans les chapitres précédents, les diverses affinités des ultra-virus neurotropes, à savoir : le *groupe encéphalitique*, le *virus de la rage* (virus fixe et le virus des rues), celui de la *poliomyélite* et le germe de la *vaccine* (3). Nous désirons coordonner les données acquises et en déduire les conclusions que voici :

1° Envisageons d'abord ces ultra-virus au point de vue de leurs propriétés générales : ils appartiennent au même groupe, puisqu'ils sont tous filtrants, qu'ils se conservent tous à l'état sec et dans la glycérine, qu'ils se détruisent vers la même température, qu'ils n'ont pas été cultivés sur les milieux habituels, mais seulement en symbiose avec les éléments cellulaires *in vitro* (4), etc. Ils sont cependant spécifiquement différents, attendu qu'ils n'agissent pas de la même manière sur les diverses espèces animales et qu'ils ne vaccinent pas l'un contre l'autre (expériences d'*immunité croisée*, Levaditi, Harvier et Nicolau).

2° Considérons ensuite leur affinité pour les divers tissus, en tenant compte des *feuillets embryonnaires* auxquels ces tissus appartiennent : l'*ectoderme* et le *mésoderme*. Rappelons surtout que le système nerveux central et ses expansions ne sont autres que de l'ectoderme invaginé. Définissons, d'autre part, le terme « affinité » par la propriété que possède le germe, lorsqu'il est inoculé dans un tissu donné, de s'y implanter et d'y engendrer une *lésion locale*.

(1) Les expériences de Levaditi et Nicolau, entreprises depuis la rédaction de ce mémoire, ont montré que le virus vaccinal s'adapte au cerveau, au point de se transformer en un véritable *virus fixe*. La *neurovaccine* engendre, tant chez l'homme que chez l'animal (singe et lapin), des vésico-pustules cutanées caractéristiques (*C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1911, **173**, p. 870 ; 1922, **174**, p. 249).

(2) Levaditi. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1921, **85**, p. 425.

(3) Levaditi, Harvier et Nicolau. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 6 juillet 1921.

(4) Harde. La vaccine, Jubilé de Metchnikoff, 1921, p. 107; Levaditi. Poliomyélite, rage. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1914, **139**, p. 284 ; *C. R. de la Soc. de Biol.*, **25**, p. 505.

Comparons ces divers virus au point de vue de leurs affinités pour l'*ectoderme* (cornée et peau), pour l'*ectoderme* invaginé (système nerveux central et périphérique, organes sensoriels) et pour le *mésoderme* (sang, péritoine, ganglions lymphatiques, tissu cellulaire sous-cutané, etc.).

1° *Les ultra-virus neurotropes n'ont pas d'affinité marquée pour les tissus qui dérivent du mésoderme.* Inoculés sous la *peau*, dans la *circulation générale* ou dans le *péritoine*, ils se montrent ou totalement inoffensifs, ou bien doués d'une

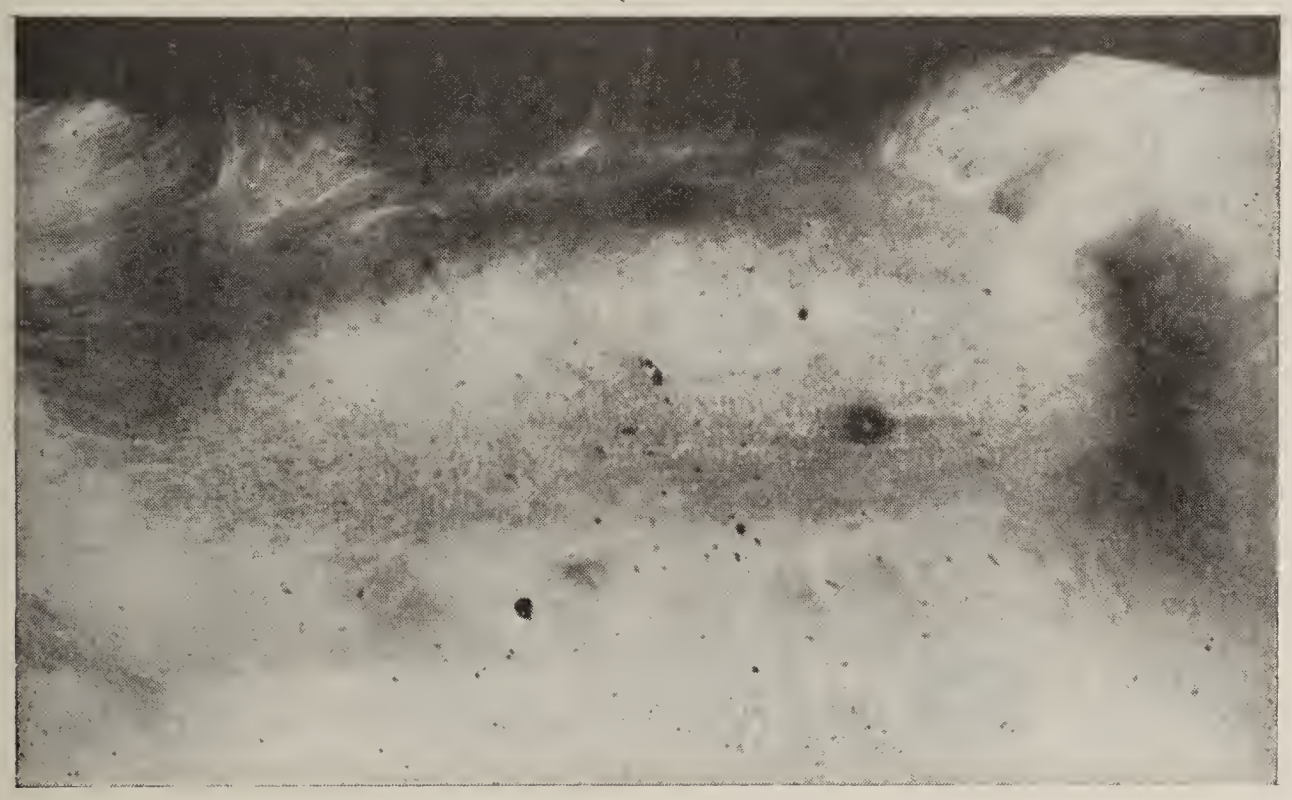


Fig. 3. — *Papules cutanées provoquées chez le lapin par inoculation de salive kératogène.*

virulence faible et inconstante, variable d'après l'espèce animale.

2° Par contre, *ces ultra-virus offrent une affinité élective pour les tissus dérivant de l'ectoderme* (cornée, peau et système nerveux) et pour *les segments supérieurs de l'ectoderme* (muqueuse naso-pharyngée et buccale).

A. *Vaccine.* — Le virus vaccinal offre une *affinité constante et obligatoire pour la peau et la cornée*, et une *affinité variable, facultative pour l'encéphale* (A. Marie ; Levaditi, Harvier et Nicolau). Cette affinité pour le névraxe ne devient constante qu'après un assez grand nombre de passages cérébraux.

B. *Groupe encéphalitique.* — Le virus salivaire (1) et celui dit de l'*herpès* offrent une affinité constante pour la cornée et la peau (Levaditi, Harvier et Nicolau) et une affinité variable, facultative pour le cerveau. Le germe de l'*encéphalite* (salive de porteurs sains et encéphalite) montre une *affinité obligatoire pour l'ectoderme*, considéré dans son ensemble (cornée, peau, système nerveux central et périphérique).

C. *Le virus rabique* se comporte comme celui de l'encéphalite, avec cette différence que son affinité pour la peau et la cornée lui permettent d'envahir l'organisme pour se diriger le long des nerfs vers l'axe cérébro-spinal ; par contre, elle ne se traduit par aucune lésion locale. On peut, en effet, transmettre la rage par application de virus (fixe ou des rues) sur la cornée scarifiée (Feran), ou sur la peau préalablement rasée (Remlinger) (2), et cependant l'inoculation n'est suivie ni de kératite, ni de lésions cutanées. Plus encore, la cornée transparente d'un lapin infecté par voie cornéenne, et qui contracte la rage, renferme du virus transmissible suivant la même voie à un animal neuf. En somme, *le virus rabique jouit d'une affinité marquée pour la peau et la cornée* (non suivie de lésion locale), et *d'une affinité obligatoire pour l'axe encéphalo-médullaire.*

D. *Le germe de la poliomyélite ne présente aucune affinité pour l'épiderme et la cornée, mais seulement pour le système nerveux central* [particulièrement, *pour la substance grise de la moelle épinière* (Landsteiner et Levaditi)]. Il nous a été impossible de conférer la poliomyélite au singe par voie cornéenne ou cutanée (Levaditi, Harvier et Nicolau), et, d'autre part, le virus poliomyélitique ne provoque pas de kératite chez le lapin.

E. Nous ajouterons que, pour certains de ces ultra-virus, l'*affinité pour l'ectoderme naso-pharyngé et buccal* ne laisse aucun doute. Le virus de la poliomyélite et celui du groupe encéphalitique ont été décelés dans les sécrétions du nez et de la gorge, ainsi que dans la salive, où ils semblent rattachés aux cellules épithéliales (Levaditi, Harvier et Nicolau). Il n'est pas impossible qu'il en soit de même du virus rabique qui,

(1) La salive exclusivement kératogène engendre de rares papules cutanées (voy. fig. 3).

(2) Remlinger, dans Babès, *Traité de la rage*, Baillière 1912, Paris.

pareil à celui de l'encéphalite, pourrait fort bien être un parasite des cellules épithéliales de la bouche, plus qu'un germe excrété par les glandes salivaires. Le germe vaccinal (*neurovaccine*), inoculé dans les veines, engendre des pustules sur la muqueuse linguale et pullule dans la salive (Levaditi et Nicolau).

La figure ci-dessous montre ces diverses affinités des ultra-virus neurotropes.

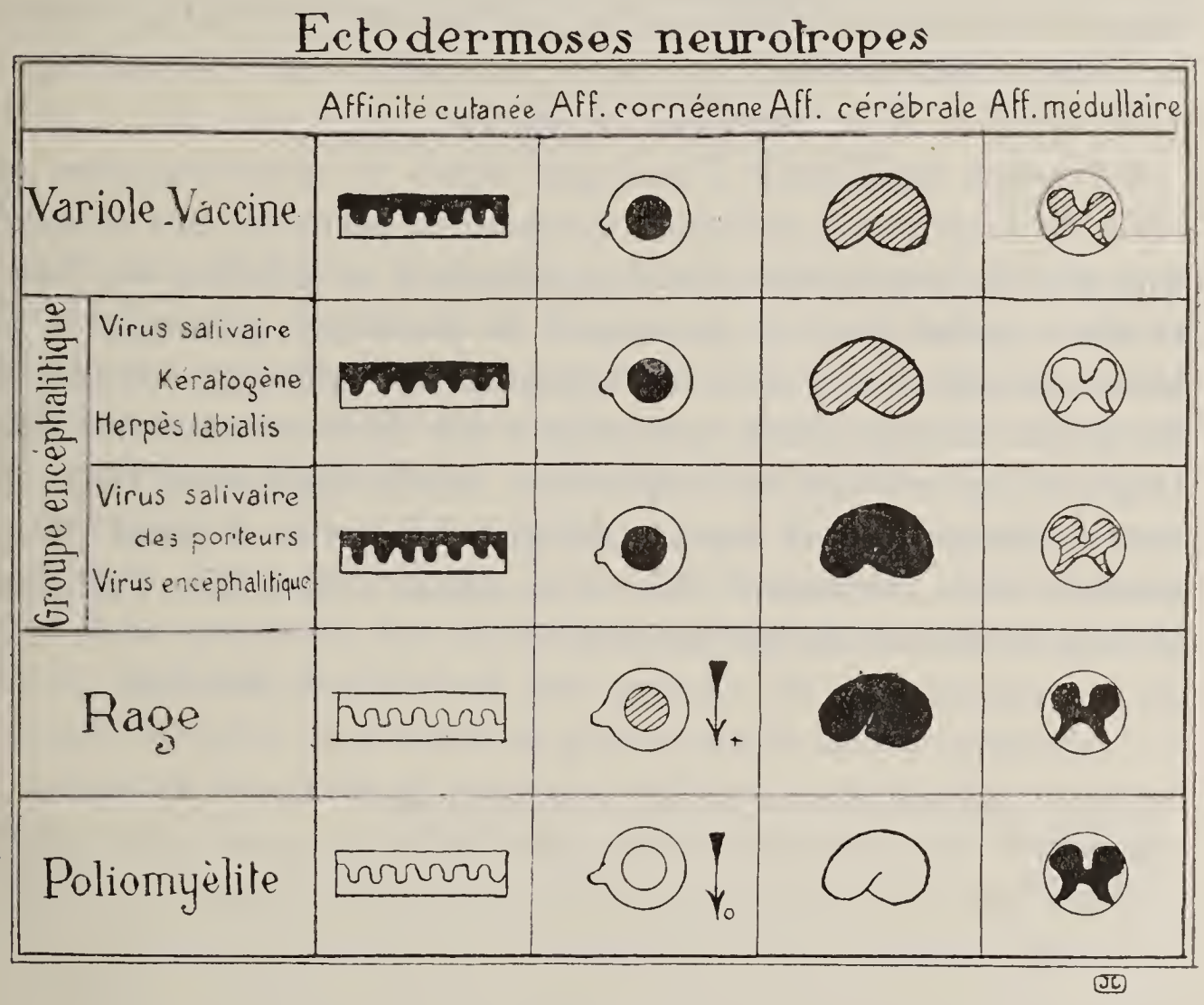


Schéma 16.

Conclusions. — Les ultra-virus neurotropes, spécifiquement différents, mais appartenant au même groupe, jouissent d'une propriété commune, à savoir : *leur affinité pour l'épithélium des feuillets embryonnaires ectodermiques, cornée, peau, système nerveux et ses expansions.* Il y a donc lieu de désigner les affections qu'ils provoquent par le terme d'*Ectodermoses* (1), et puisque chez tous nous retrouvons une affinité plus ou moins

(1) Par opposition avec les *mésodermoses*, maladies infectieuses, provoquées par la plupart des microbes visibles et cultivables. Il s'agit là d'une loi générale. Levaditi. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1921, **173**, p. 370, séance du 8 août.

marquée (facultative ou obligatoire) pour l'axe cérébro-spinal, ces affections sont des *Ectodermoses neurotropes.*

La peau (épiderme) et la moelle épinière se trouvent aux deux extrêmes de l'échelle des affinités des divers ultra-virus neurotropes. Il semble que plus un virus acquiert d'affinité pour l'ectoderme proprement dit, moins il est apte à s'attaquer au système nerveux central, et inversement. A ce point de vue, la vaccine est le moins neurotrope des virus étudiés, tandis que le germe de la poliomyélite est le plus rigoureusement acclimaté à l'axe cérébro-spinal, le plus exclusivement neurotrope. L'encéphalite et la rage font transition.

On saisit facilement l'analogie entre ce neurotropisme et celui du *Treponema pallidum.* Levaditi et Marie (1) ont montré que plus le tréponème offre de tendance à se localiser sur l'axe cérébro-spinal, pour y provoquer la paralysie générale et le tabes, moins il est apte à s'attaquer à l'épiderme cutané et muqueux. L'opposition, qui sépare les deux variétés dermotrope et neurotrope du tréponème, existe également entre la variété herpétique et encéphalitique du germe filtrant de la maladie de v. Economo. Elle a sa raison d'être dans l'affinité tissulaire diverse de ces germes.

11 août 1921.

(1) Levaditi et Marie. Ces *Annales*, 1919, **33**, p. 741.

NOTE SUR L'EMPLOI DU VACCIN BILIÉ DE BESREDKA PAR LA VOIE BUCCALE DANS QUELQUES FOYERS ÉPIDÉMIQUES DE FIÈVRE TYPHOÏDE

par le Dr Louis VAILLANT,
Inspecteur d'hygiène du Pas-de-Calais.

Les cas de fièvre typhoïde se sont multipliés l'été dernier dans plusieurs régions de la France et, en particulier, dans la région dévastée du département du Pas-de-Calais. Quelques cas sont apparus dans différents villages et dans certains ce réveil de l'infection typhoïdique a revêtu le caractère épidémique.

L'origine de ces différents cas n'a pu être déterminée avec précision. Dans un village, celui de Neuvireuil, dont il sera plus loin question, les premières personnes atteintes par la fièvre typhoïde habitaient un groupe de baraquements où l'année dernière il y avait eu quatre cas de fièvre typhoïde.

Les eaux des puits de tous ces villages sont le plus souvent impropres aux usages domestiques. La proportion des chlorures atteint et dépasse 100 à 150 milligrammes par litre; les nitrites n'y sont pas seulement à l'état de trace, la quantité peut en être dosée. Toutes ces eaux revêtent le caractère d'eaux polluées par les infiltrations de la surface. Cette année devait encore s'y ajouter, comme conséquence de la sécheresse, la baisse énorme du niveau de la nappe d'eau. Celle-ci n'ayant pour ainsi dire plus de courant, se renouvelait à peine dans le fond des puits, restait stagnante, permettant ainsi à toutes les impuretés, venues de la surface, de s'y multiplier. Ces puits qui furent, d'ailleurs, curés et récurés plusieurs fois sont pour la plupart restés établis dans la région dévastée là où ils existaient avant la guerre, au voisinage de tas de fumiers et des étables, sans aucune protection; les puits fermés avec seaux à demeure sont rares. On ne peut donc s'étonner que, dans de

pareilles conditions, l'eau que l'on y puise pour l'alimentation soit mauvaise et que toutes les impuretés s'y développent.

Enfin, les baraquements servant de gîtes à ceux qui sont revenus sont bien souvent des taudis surpeuplés et mal tenus où sont réalisées toutes les conditions pour la transmission facile des maladies contagieuses.

C'est dans ces conditions que la fièvre typhoïde est apparue avec un caractère épidémique dans deux villages situés l'un dans le canton de Vimy, Neuvireuil, l'autre, dans le canton de Bapaume, Frémicourt.

*
* *

Le 14 septembre, deux cas de fièvre typhoïde étaient officiellement déclarés à *Neuvireuil*. Une enquête faite aussitôt sur place permettait de découvrir douze autres personnes atteintes de la même maladie. Le premier cas datait du 14 août; il était survenu dans un baraquement où, l'année dernière, il y avait eu quatre cas de fièvre typhoïde, les autres personnes malades se trouvaient aux alentours et également dans des maisons plus éloignées. L'épidémie se prolongea ainsi jusqu'au 10 octobre, atteignant les grandes personnes aussi bien que les enfants; souvent les membres d'une même famille furent pris successivement. Dans ces trois mois on compte dans ce village trente cas de fièvre typhoïde.

Dans tous les villages immédiatement avoisinants, d'autres cas furent déclarés : le 18 septembre un cas à *Fresnoy;* à la même date, un cas à *Izel-les-Esquerchins* où un second cas se produisait le 30 octobre; à *Oppy*, un cas le 3 octobre, un autre le 24 octobre, un troisième le 6 novembre, un quatrième le 8 novembre; à *Bailleul-sur-Berthould*, trois cas les 8, 15 et 18 octobre.

Le second foyer épidémique s'est développé à *Frémicourt*, à quelques kilomètres de Bapaume. L'épidémie y est restée localisée. Ce village n'est pas complètement détruit comme ceux dont il vient d'être parlé. La fièvre typhoïde y est signalée le 3 juillet. Jusqu'au 12 novembre, on y relève dix-neuf cas. Ici les enfants, aussi bien que les grandes personnes, sont atteints. On compte, en effet, six enfants de moins de dix-huit

ans, quatre adultes de vingt à quarante ans, et neuf de quarante à soixante-dix ans. Dans ce village, aucun des hommes mobilisés pendant la guerre et ayant été vaccinés n'a eu la fièvre typhoïde. Par contre, parmi les personnes malades on en trouve huit qui furent vaccinées par les Allemands, au cours de leurs différentes évacuations, entre 1916 et 1918.

Pour lutter contre ces foyers épidémiques, une seule arme était valable : la vaccination. Car, désinfecter des baraquements est une chose délicate; faire observer les règles les plus élémentaires d'hygiène dans ces logis, où toute la famille habite pour ainsi dire la même pièce, serait un leurre. L'hospitalisation d'office des malades a bien été appliquée, mais c'est une mesure exceptionnelle et mal acceptée.

D'autre part, comment faire admettre les injections de T. A. B.? Les mobilisés leur ont fait une réputation peu engageante, et à moins de voir le danger imminent de la maladie, peu d'habitants étaient enclins à se prêter à cette opération qui entraîne si souvent, au minimum, vingt-quatre heures d'indisponibilité.

A Neuvireuil, où l'épidémie était en pleine évolution, où l'on voyait, les uns après les autres, les membres d'une même famille ou d'un même groupe de maisons être pris de la maladie, on parvint en trois séances (du 22 septembre au 6 octobre) à vacciner 158 habitants. Par contre, à Oppy, situé à un kilomètre de Neuvireuil, alors qu'un seul cas de fièvre typhoïde y était signalé, 65 habitants reçurent la première injection de T. A. B. chauffé; mais 15 seulement acceptèrent la deuxième; les autres la refusèrent, prétendant avoir été trop malades de la première.

Il fallait cependant agir et, en face du danger d'épidémie, protéger la population. Nous avons eu alors l'idée d'avoir recours à la vaccination par voie buccale au moyen de vaccin bilié de Besredka.

On sait que dans ses remarquables recherches sur l'immunisation par voie buccale, le professeur Besredka a démontré comment la muqueuse intestinale normale constitue une barrière que ne franchit pas le bacille absorbé par la bouche; que, d'autre part, l'absorption de bile, en intensifiant la sécrétion biliaire, entraîne une desquamation de l'épithélium de la muqueuse intestinale. La barrière infranchissable étant de la

sorte rompue, les bacilles sont plus facilement absorbés. Il a, de plus, démontré qu'une grande partie du processus de vaccination s'accomplit au niveau même de la paroi intestinale. Pour rendre le vaccin typhique fidèle dans ses effets, il faut donc préparer la muqueuse intestinale de façon à la rendre apte à recevoir le vaccin, en y adjoignant une certaine quantité de bile.

Dans la région de Neuvireuil (Fresnoy, Oppy, Izel, Bailleul) où 1.148 habitants furent ainsi vaccinés et à Frémicourt 88, il fut procédé à la vaccination *per os* de la façon suivante. Trois jours de suite, complètement à jeun, le matin au saut du lit, chaque habitant absorbait une pilule de bile et un comprimé contenant un mélange de bacilles typhiques, de paratyphiques A et de paratyphiques B, tués par la chaleur. Pour les enfants au-dessous de sept ans, les pilules et les comprimés n'étaient pris que pendant deux jours.

L'absorption de vaccin bilié n'a provoqué, en général, aucun malaise. Ainsi, dans le village de Bailleul-sur-Berthould, où l'instituteur recueillit, avec un soin tout particulier, des renseignements sur les malaises ressentis, on trouve que, sur 396 personnes, 15 ont eu de légères coliques, 5 un peu de diarrhée le premier jour, 24 de la migraine, 1 des nausées. Ces légers malaises, dont la plupart seraient peut-être passés inaperçus, n'empêchèrent aucun des habitants vaccinés de vaquer à leurs occupations habituelles et de s'alimenter comme de coutume. Les femmes enceintes ou ayant leurs époques, les malingres ne subirent aucun trouble particulier. On peut donc affirmer que l'absorption de vaccin bilié *per os* est complètement inoffensive; elle ne provoque aucune des réactions, parfois dramatiques, qu'entraînent les injections de T. A. B. sous la peau.

*
* *

Au point de vue immunisation, quels ont été les résultats?

A *Neuvireuil*, où l'épidémie fut sévère puisque l'on y a relevé trente cas de fièvre typhoïde, la majorité des habitants, c'est-à-dire 158, reçurent (22 et 29 septembre) deux injections de vaccin T. A. B. chauffé n° 2 sous la peau. 23 seulement absorbèrent du vaccin bilié (29 et 30 septembre et le 1er octobre).

Aucune de ces 23 personnes ne contracta la fièvre typhoïde. Cependant, après cette vaccination l'épidémie continuait à évoluer : le 29 septembre, un enfant de dix ans, qui n'avait reçu qu'une seule injection de T. A. B. le 22 septembre, présentait les premiers symptômes de la fièvre typhoïde. Le 9 octobre, un autre enfant de onze ans était également atteint. Celui-ci, bien qu'il eût reçu deux injections de T. A. B. (le 22 et le 29 septembre), était atteint très gravement et mourait le 6 novembre. Enfin, le 10 octobre, le dernier cas était enregistré chez un homme de cinquante-six ans, vacciné, comme le précédent, par injections sous-cutanées de T. A. B.

A *Fresnoy*, un seul cas de fièvre typhoïde, le 18 septembre. 75 habitants absorbèrent du vaccin bilié les 28, 29, 30 septembre.

Aucun nouveau cas ne s'est produit.

Dans le village d'*Izel-les-Esquerchins*, il n'y a eu que deux cas. Le dernier, celui du 3 octobre, est survenu chez un enfant dont la sœur avait eu la fièvre typhoïde le 18 septembre. Cet enfant avait absorbé du vaccin bilié les 29, 30 septembre et le 1er octobre. Il était donc en incubation, au moment où il a été vacciné : la fièvre typhoïde se déclarait chez lui deux jours après la dernière absorption de vaccin. L'évolution de la maladie fut, d'ailleurs, très bénigne chez lui. Dans ce village, près de 600 doses de vaccin furent distribuées. En dehors des deux cas qui viennent d'être mentionnés, aucun autre n'a été signalé.

Sur les trois cas qui furent déclarés à *Bailleul-sur-Berthould*, deux sont survenus les 15 et 18 octobre chez des personnes qui absorbèrent du vaccin bilié les 14, 15 et 16 octobre. Ici encore le vaccin a été absorbé pendant la période d'incubation de la maladie; celle-ci fut, d'ailleurs, aussi très bénigne dans son évolution. Sur les 396 personnes ainsi vaccinées dans ce village, aucun nouveau cas n'est apparu.

A *Oppy*, 117 habitants furent vaccinés : les uns (15) reçurent deux injections de T. A. B., d'autres (50) une seule injection ; enfin, 52 absorbèrent du vaccin bilié les 16, 17 et 18 octobre. Le 29 octobre, un cas attribué à la fièvre typhoïde se produisait chez une jeune fille qui avait reçu une injection de T. A. B. le 4 octobre et absorbé les trois doses de vaccin. Elle mourait le 4 novembre, après avoir eu la fièvre d'une façon continue ; le

diagnostic porté par le médecin traitant fut celui de fièvre infectieuse. Etant donnés la rapidité de l'évolution de la maladie — à peine un septénaire — et le peu de renseignements cliniques recueillis à son sujet, il est difficile d'affirmer le diagnostic de fièvre typhoïde. D'autre part, son père était mort de bronchopneumonie le 12 octobre. Cependant les deux sœurs de cette jeune fille, qui ne furent vaccinées d'aucune façon, eurent la typhoïde, avec début le 6 et le 8 novembre. Leur sérum agglutinait nettement le bacille typhique au 1/500. Si l'on rattache à la dothiénentérie la maladie à laquelle succomba cette jeune fille, on remarquera que l'infection s'est manifestée dix jours après l'absorption du vaccin.

A *Frémicourt*, 88 habitants furent vaccinés par le vaccin bilié; 14, du 23 au 25 septembre, 31, du 15 au 17 octobre et 43, du 17 au 23 novembre. Dix jours après l'absorption du vaccin, un enfant âgé de douze ans présente, le 28 octobre, les symptômes de la fièvre typhoïde. La maladie fut chez lui très bénigne, et ses deux sœurs, âgées respectivement de dix et six ans, vaccinées aux mêmes dates que lui, n'eurent absolument rien.

Il en fut de même pour tous les autres vaccinés, et cependant du 23 septembre, date de la première vaccination, au 12 novembre, date du dernier cas reconnu de fièvre typhoïde, on en relève six chez les non-vaccinés. C'est ainsi que dans une famille on voit une petite fille de onze ans et une autre de trois ans avoir la fièvre typhoïde, tandis que leur frère âgé de huit ans, mais vacciné, n'a rien eu. Dans une autre, la sœur aînée a la fièvre typhoïde, la cadette vaccinée reste en bonne santé.

*
* *

En résumé, si l'on réunit tous les renseignements qui viennent d'être donnés, on voit que, dans ces six villages, du mois d'août au mois de novembre, il s'est produit 59 cas de fièvre typhoïde : 29 cas avant que toute mesure de prophylaxie ne soit prise, 30 cas après que les mesures avaient été prises (21 chez les non-vaccinés et 9 chez les vaccinés).

Sur une population d'environ 2.000 habitants, il en a été vacciné 1.236 par le vaccin bilié de Besredka, 173 par le vaccin

		Neuvireuil	Fresnoy	Oppy	Izel	Bailleul	Frémicourt	Totaux	Observations
Nombre de vaccinés par voie sous-cutanée (T. A. B.).		158	»	15 + 50 n'ont eu qu'une seule injection.	»	»	»	173	A Oppy, 50 habitants ont reçu une seule injection.
Nombre de vaccinés par voie buccale (vaccin bilié).		23	75	52	602	396	88	1.236	
Nombre de cas de fièvre typhoïde.	Chez les vaccinés par voie sous-cutanée (T. A. B.).	4	»	»	»	»	»	4	De 5 à 12 jours après la dernière injection, soit 2,3 p. 100.
	Chez les vaccinés par voie buccale (vaccin bilié).	»	»	1 Diagnostic douteux.	1 en incubation	2 en incubation	1	5	3 le lendemain ou au cours de la vaccination, 2 dix jours après absorption du vaccin bilié, soit 0,17 p. 100.
	Chez les non-vaccinés.	26	1	3	1	1	18	50	29 cas avant la vaccination, 21 cas après la vaccination, soit 7,7 p. 100.

Sur 600-650 non-vaccinés . . . . . il a été enregistré 50 cas de fièvre typhoïde, soit 7,7 p. 100 environ.
Sur 173 vaccinés au moyen de T. A. B — 4 — — 2,3 —
Sur 1.236 vaccinés au moyen du vaccin bilié, — 2 — — 0,17 —

T. A. B. chauffé, et l'on peut estimer à 600-650 le nombre de ceux qui échappèrent à la vaccination.

Dans ces trois groupes, on remarque que, sur les 1.236 habitants ayant absorbé du vaccin bilié, 5 sont atteints de fièvre typhoïde, dont 3 au cours de la vaccination ou le lendemain, 2 au dixième jour après la vaccination, soit *0,17 p. 100*; de même pour ceux vaccinés par le T. A. B. : 4 présentent les symptômes de la fièvre typhoïde entre le cinquième et le douzième jour après la dernière injection, soit *2,3 p. 100*, c'est-à-dire pendant la période latente où l'immunisation n'a pu encore s'établir d'une façon suffisante. Par contre, sur les 600 ou 650 habitants non vaccinés, on compte 29 cas de fièvre typhoïde avant le début des vaccinations et 21 après, soit *7,7 p. 100* (v. tableau ci-contre).

Ce sont là des résultats encourageants ; s'ils ne permettent pas encore de fixer la durée de l'immunité ainsi conférée, cette méthode étant appliquée pour la première fois en France sur une assez grande échelle, ils autorisent une large confiance dans son emploi. Au moment où le problème de la vaccination générale de la population se pose, il est certain que l'absorption de vaccin bilié sera beaucoup plus facilement acceptée, même si cette opération doit se répéter plusieurs fois, que la vaccination par injection sous-cutanée. Elle ne présente aucune contre-indication, elle n'entraîne aucun de ces malaises qui forcent souvent les vaccinés d'interrompre leurs occupations; enfin, elle donne, d'après les faits qui viennent d'être résumés dans cette note, une immunité au moins équivalente à celle obtenue par voie sous-cutanée.

RECHERCHES SUR LA FIÈVRE TYPHOIDE
JUILLET 1915-JANVIER 1919
(HOPITAL CENTRAL DE BAR-LE-DUC)

par Pierre HÉBERT et Marcel BLOCH.

I. — LES BACILLES DES HÉMOCULTURES POSITIVES

Dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur* de mars 1917 (n° 3, 31, p. 138), MM. Lebœuf et Braun ont publié leurs « Notes sur les résultats de 12.000 hémocultures ». La période d'observation s'étend de juillet 1915 à juillet 1916. A cette date, nous avons repris, dans le même laboratoire et dans le même hôpital, l'étude bactériologique de la fièvre typhoïde, et nous l'avons poursuivie jusqu'au 1er janvier 1919.

Il nous paraît utile de joindre à nos résultats, portant sur vingt-neuf mois d'étude, ceux de MM. Lebœuf et Braun, portant sur les douze mois précédents. Notre hôpital a continué à recevoir les malades des mêmes secteurs. L'étendue de ces secteurs, le grand nombre de lits dont disposait l'hôpital ont permis de centraliser ainsi au même laboratoire l'étude bactériologique des typhoïdiques d'une fraction importante des armées, pendant une période qui s'étend de juillet 1915 à janvier 1919.

(Pendant cette période tous les fébricitants suspects étaient systématiquement hémoculturés à leur entrée à l'hôpital).

Nombre des hémocultures pratiquées par le laboratoire de l'*Hôpital central de Bar-le-Duc, du 15 juillet 1915 au 1er janvier 1919* : 18.650.

12.000 par Lebœuf et Braun, du 15 juillet 1915 au 15 juillet 1916.
6.650 par P. Hébert et M. Bloch, de juillet 1916 à janvier 1919.

Nombre de germes typhoïdiques isolés : 5.987.

3.650 par Lebœuf et Braun.
2.337 par P. Hébert et M. Bloch.

Le graphique du nombre des hémocultures positives permet de distinguer quatre périodes de l'endémie, correspondant aux quatre années. Le maximum pour chaque période correspond au deuxième semestre annuel; ce maximum annuel de l'endémie paraît dépendre plus des influences saisonnières que des circonstances de guerre : c'est ainsi qu'en 1916, le maximum des cas positifs ne s'est pas produit pendant la grande poussée sur Verdun, correspondant à la plus grande densité des troupes, mais pendant le deuxième semestre, relativement plus calme au point de vue militaire.

Le nombre des cas devient faible en 1917 et très faible en 1918.

Technique.

Voici la technique bactériologique adoptée :

Hémoculture. — 3 cent. cubes de sang recueilli par ponction veineuse sont mélangés à 6 cent. cubes de bile; vingt-quatre heures d'étuve; ensemencement du mélange sur gélose.

Différenciation à l'aide de la gélose glucosée profonde, de la gélose au plomb et du lait tournesolé après quarante-huit heures d'étuve. Lorsque le petit nombre des hémocultures le permettait, agglutination du bacille obtenu à l'aide des sérums agglutinants de l'Institut Pasteur. Cette agglutination était de règle toutes les fois que le doute le plus léger pouvait s'élever sur la netteté ou les concordances des réactions biochimiques.

Toutes les hémocultures dont l'ensemencement sur gélose (après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve) était resté négatif, séjournaient quarante-huit heures de plus à l'étuve, et n'étaient considérées comme définitivement négatives qu'après un repiquage sur gélose. 5 à 10 p. 100 de nos hémocultures positives ont été ainsi « positives retardées ». Il est à remarquer que, dans ces cas, il s'agissait presque exclusivement de T. ou de B.

Plusieurs centaines de repiquages d'hémocultures deux fois négatives, laissées six, douze et quinze jours à l'étuve, ne nous ont pas donné un seul résultat positif.

Différenciation des germes isolés.

Les 5.987 germes isolés comprennent :

765	bacilles typhiques	soit	12,77	p. 100.
4.412	— paratyphiques A. . .	—	73,67	—
810	— — B. . .	—	13,56	—

Ce sont donc les paratyphiques A qui ont été de beaucoup les plus fréquents. Mais ce résultat global est, en réalité, moins intéressant que les variations observées aux diverses périodes, sur les espèces de germes différenciées.

Espèces microbiennes isolées mensuellement, du 15 juillet 1915 au 1er juillet 1919.

	1915			1916			1917			1918		
	T	A	B	T	A	B	T	A	B	T	A	B
Janvier. . . .	»	»	»	28	319	20	11	64	3	7	4	1
Février. . . .	»	»	»	8	148	10	5	25	2	9	4	3
Mars..	»	»	»	14	64	7	1	5	4	2	2	1
Avril.	»	»	»	34	109	22	3	2	0	2	0	0
Mai.	»	»	»	42	171	32	1	0	1	3	2	0
Juin	»	»	»	44	110	40	4	3	2	4	1	0
Juillet	57	69	43	58	253	82	3	12	2	1	1	0
Août	57	208	86	103	411	88	14	16	8	4	1	1
Septembre . .	65	217	109	59	292	47	13	21	5	0	1	2
Octobre . . .	22	429	113	47	250	18	14	11	7	2	2	0
Novembre . .	12	584	36	24	129	5	13	12	3	1	0	2
Décembre . .	5	453	34	12	67	5	15	9	9	0	0	0

Ainsi la prédominance extraordinaire des cas de paratyphoïde A n'existe que pendant les phases 1915 et 1916 de l'endémie.

A partir de la fin de 1916, le T tend à prendre une place égale, puis prépondérante (fig. 1).

Le pourcentage du B varie peu, par rapport aux autres espèces. Par contre, la prédominance de l'A, jusqu'en avril 1917 (période maxima de l'épidémie), s'efface à partir de ce moment (décroissance et fin de l'épidémie) : il semble donc bien que plus la morbidité typhoïdique se rapproche de ce qu'elle doit

être normalement, plus l'importance des paratyphiques décroît, plus le rôle du T s'affirme.

L'année 1918, la plus éloignée du début de la guerre, est sans doute celle qui se rapproche le plus des années typhoïdiques normales du temps de paix.

Nous n'avons pas de renseignements certains sur la nature du germe prédominant pendant les premiers mois de la guerre, mais il semble bien qu'au début de l'épidémie, c'est le bacille T qui régnait. A partir de juillet 1915 c'est le paratyphique A qui, pourdes raisons encore à élucider, détermine l'immense majorité des cas. Mais dès le début de 1917 le T reprend peu à peu son importance dominante, probablement habituelle en temps de paix.

II. — MORTALITÉ TYPHOIDIQUE (1915-1919)

Les hémocultures pratiquées systématiquement, les autopsies auxquelles nous avons assisté et les protocoles d'autopsie que nous avons pu consulter, nous ont permis de relever la variété microbienne de chaque typhoïdique décédé, de comparer les chiffres de mortalité à ceux de la morbidité pour ces espèces microbiennes, suivant les époques et les circonstances, et aussi de noter les lésions ou les complications qui avaient marqué la maladie ou déterminé la mort.

Les chiffres que nous donnerons s'entendent seulement des *typhoïdes à hémoculture positive* et à *bacilles identifiés*. Il est donc entendu qu'ils n'ont qu'une valeur relative et ne portent pas sur la totalité des typhoïdiques qui furent traités pendant cette période. Ils ne concernent que ceux (la très grande majorité d'ailleurs) chez qui le microbe causal fut isolé, et nous avons écarté systématiquement les typhoïdes dites « cliniques » non vérifiées par l'hémoculture.

Les autopsies dont nous faisons mention sont celles de sujets à hémoculture positive, à bacilles identifiés ou de sujets chez lesquels l'examen de la bile, *post mortem*, nous a permis de recueillir et d'identifier le bacille pathogène.

Autopsies. — La bile était recueillie aseptiquement et semée directement sur gélose inclinée.

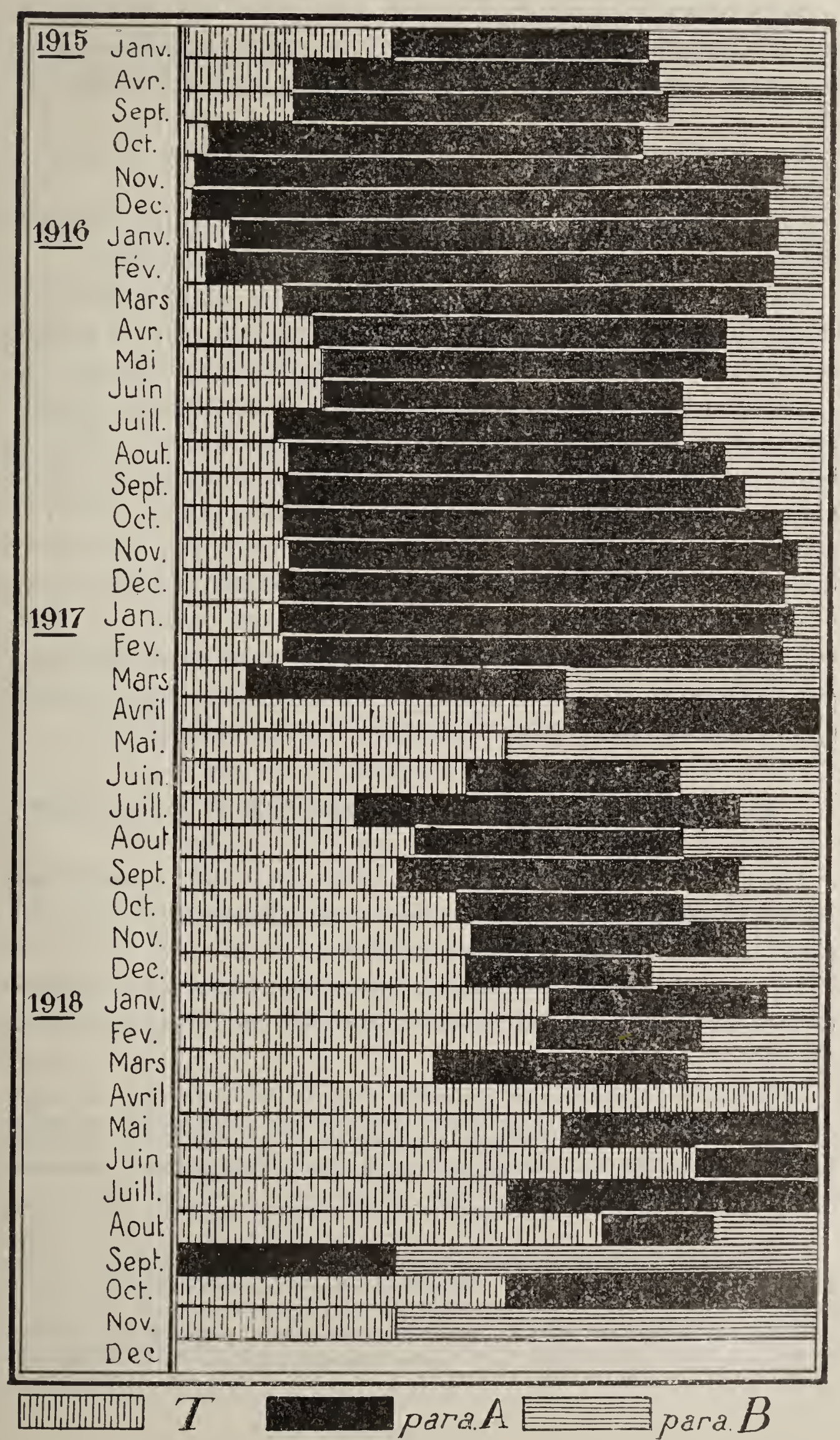

1915
Janv.
Avr.
Sept.
Oct.
Nov.
Dec.
1916
Janv.
Fév.
Mars
Avr.
Mai
Juin
Juill.
Aout.
Sept.
Oct.
Nov.
Déc.
1917
Jan.
Fev.
Mars
Avril
Mai.
Juin.
Juill.
Aout
Sept.
Oct.
Nov.
Dec.
1918
Janv.
Fev.
Mars
Avril
Mai
Juin
Juill.
Aout.
Sept.
Oct.
Nov.
Dec
T
para. A
para. B

FIGURE 1.

Nous avons fréquemment semé, avec résultats positifs, le suc de ganglions mésentériques et la pulpe splénique. Les autopsies avaient lieu en général moins de 24 heures après la mort.

Les bacilles obtenus étaient identifiés comme ceux des hémocultures.

Cette technique, simplifiée à l'extrême mais rigoureusement suivie, nous a donné des résultats réguliers et constants.

Pas une seule fois parmi les 5.987 bacilles obtenus dans ce laboratoire par hémoculture (18.650 hémocultures) ou parmi ceux retirés de la bile, il n'a été trouvé de bacilles aberrants (1).

Certains bacilles avaient une action plus ou moins marquée sur la glucose ou le plomb, mais toujours la réaction culturale reprenait sa netteté désirable à l'occasion d'un ou de deux passages sur le milieu en question. L'agglutination a été très généralement positive à la première tentative. Les agglutinations en partant de cultures sur bouillon ou sur eau peptonée, diluées dans l'eau physiologique, nous ont paru les plus sensibles et les plus précoces. Nous les faisions par la méthode macroscopique en lisant à la loupe le résultat, après vingt-quatre heures de contact à la température du laboratoire.

I. — Mortalité typhoïdique globale (1er août 1915-1er janvier 1919).

Du 1er août 1915 au 1er janvier 1919, les 5.987 typhoïdiques bactériologiquement identifiés donnèrent 266 décès (autopsies) plus 7 non autopsiés (officiers) = *273*.

La *mortalité globale* (chez les typhoïdiques bactériologiquement identifiés) a donc été, du 1er août 1915 au 1er janvier 1919, de : *4,54* p. 100.

(Mortalité typhoïdique globale aux armées du 1er novembre 1914 au 1er septembre 1917 : 9,29 p. 100 d'après les chiffres publiés par M. le médecin inspecteur Simonin : *Bulletin médical*, 4 octobre 1917, p. 381, n° 38) (2).

(1) Lebœuf et Braun (*loco citato*), sur leurs 12.000 hémocultures en bile, n'ont pas plus que nous trouvé de bacilles et de cocci, Gram positifs, et les bacilles isolés rentraient toujours dans le cadre typhique, para A, para B.

(2) La mortalité typhoïdique beaucoup plus grande, déduite des chiffres de M. le médecin inspecteur Simonin, tient à ce que nos recherches ne portent pas sur la période novembre 1914 à juillet 1915, qui figure sur la

Insistons tout de suite sur ce fait que cette morbidité et cette mortalité globales sont beaucoup moins intéressantes que leurs variations réciproques au cours des diverses époques.

Ces variations ont été conditionnées :

Par le nombre des typhoïdiques, variable suivant les époques, beaucoup plus grand au début de la guerre;

Par l'espèce microbienne prédominante, variable également suivant les époques;

Par l'état personnel des malades (vaccination, fatigues);

Par les circonstances (saisons, épidémies, densité des troupes dans les secteurs d'origine).

Nous exposerons en détail les statistiques comparées des diverses époques, par trimestres successifs, et nous tenterons de les mettre en rapport avec les circonstances précitées.

II. — Mortalité et nombre de typhoïdiques.

Le nombre des typhoïdiques a varié dans de larges proportions suivant les époques de la guerre.

M. le médecin-major Simonin, pour l'armée française, indique 87.118 cas du 1er novembre 1914 au 31 octobre 1915, 17.656 cas du 1er novembre 1915 au 31 octobre 1916.

Du 1er novembre 1916 au 1er septembre 1917, seulement 2.048 cas.

La première question à se poser est de savoir si la mortalité est proportionnelle à la gravité de l'épidémie, c'est-à-dire au nombre des malades suivant les périodes.

Voici les chiffres indiqués pour la totalité des armées par M. Simonin :

statistique en question comme la plus grave eu égard au nombre des cas et à la mortalité. Toutefois il convient de remarquer que les documents se rapportant à cette période sont de valeur incertaine et qu'en particulier la plupart manquent de contrôle bactériologique.

On jugera de l'importance du centre hospitalier de B. pour l'étude de la typhoïde, d'après les chiffres suivants :

	Total des décès par typhoïde aux armées d'après le médecin inspecteur Simonin	Décès au centre hospitalier de B
1er novembre 1915 au 30 avril 1916	302	40, soit 13 p. 100
1er mai 1916 au 30 octobre 1916	308	123, — 40 p. 100
1er novembre 1916 au 1er septembre 1917. . .	129	25, — 20 p. 100

						Mortalité
1er novembre 1913	au 3 avril 1915	pour	58.014 cas	7.013	décès, soit	15,31
1er mai 1915	au 30 oct. 1915	—	26.604 cas	1.151	—	3,88
1er novembre 1915	au 30 avril 1916	—	12.043 cas	302	—	2,51
1er mai 1916	au 30 oct. 1916	—	5.628 cas	308	—	5,48
1er novembre 1916	au 1er sept. 1917	—	2.048 cas	129	—	6,2

Du 1er août 1915 au 1er janvier 1919, où nous avons pu étudier la mortalité des *typhoïdiques bactériologiquement identifiés* à l'hôpital central de Bar-le-Duc, nous distinguerons quatre périodes :

1er août 1915	au 1er avril 1916	(8 mois).
1er avril 1916	au 1er avril 1917	(12 mois).
1er avril 1917	au 1er janvier 1918	(9 mois).
1er janvier 1918	au 1er janvier 1919	(12 mois).

Ces quatre périodes correspondent, approximativement, comme nous le verrons, à quatre phases distinctes de l'épidémie, chaque phase ayant son acmé vers la fin du deuxième semestre annuel et le chiffre minimum des cas au milieu du premier semestre. Très considérable pour la première période, le nombre des cas décroît pour la seconde et devient minime pour la troisième et la quatrième.

Quelle a été la mortalité respective pour ces quatre périodes?

	Hémo-positives	Décès	Mortalité
1er août 1915 au 1er avril 1916 (8 mois) . . .	3.046	88	2,88
1er avril 1916 au 1er avril 1917 (12 mois). . .	2.674	156	5,72
1er avril 1917 au 1er janvier 1918 (9 mois . .	203	22	10,8
1er janvier 1918 au 1er janvier 1919 (12 mois)	63	7	11,1

Si donc on en excepte les premiers mois de la guerre, où les statistiques extrêmement incomplètes n'ont pu donner que des chiffres très sujets à caution, on voit que l'étude de la mortalité chez les typhoïdiques, rigoureusement identifiés par la bactériologie à partir du 1er août 1915, donne ce résultat inattendu que la *mortalité a été fortement croissante, quand le nombre des malades décroissait.* (Nos chiffres de mortalité se trouvent très analogues à ceux établis par M. Simonin pour la totalité de l'armée.)

Une courbe établie avec les chiffres trimestriels d'hémocultures positives et de décès chez les typhiques identifiés,

montrera cet accroissement *a priori* paradoxal de la mortalité (fig. 2).

Comment expliquer cette anomalie de l'augmentation de la mortalité, à mesure que la morbidité diminue, chez des

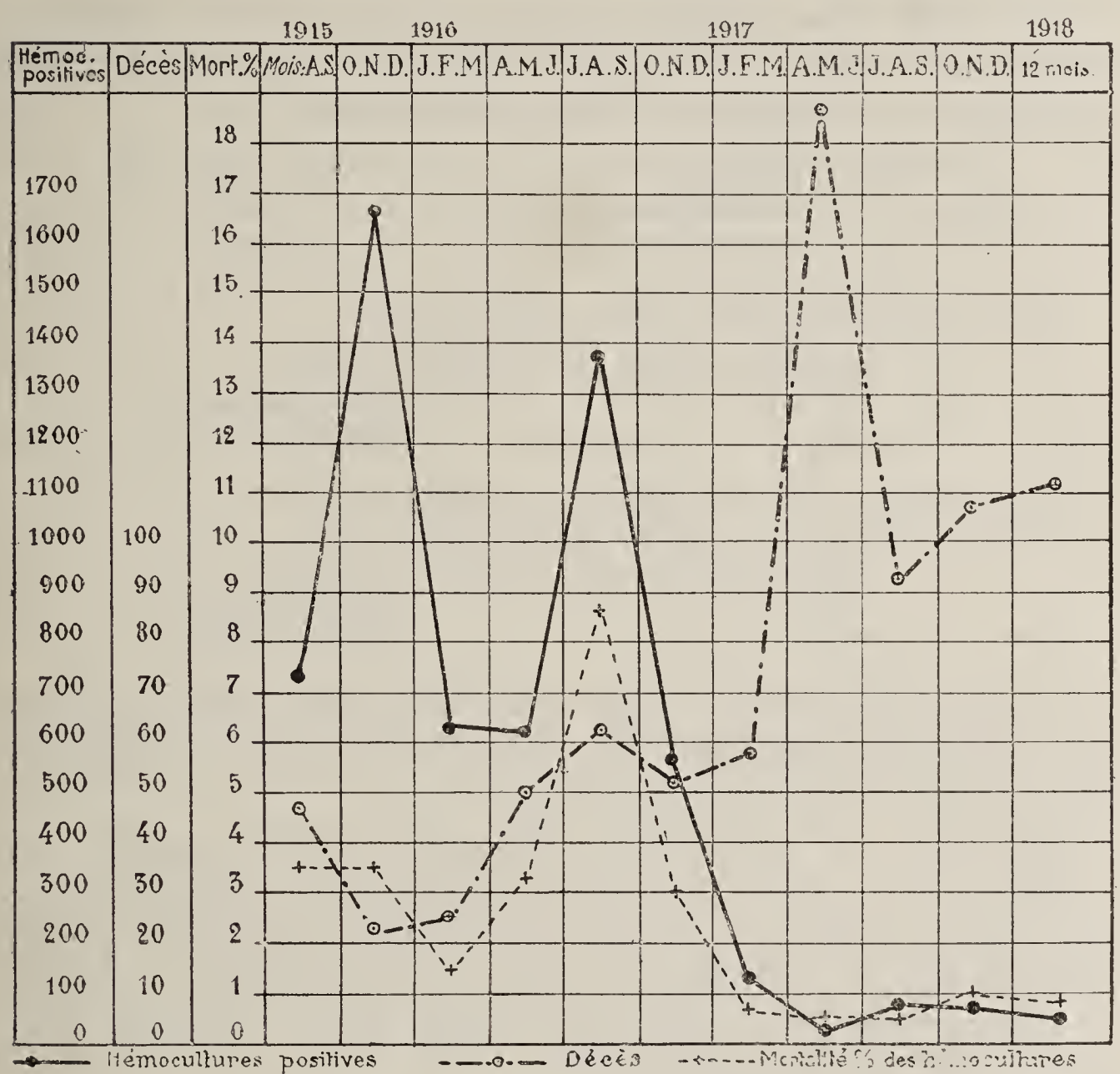


FIGURE 2.

malades placés dans des conditions identiques de traitement (mêmes services de l'hôpital central de Bar-le-Duc)?

Le chapitre suivant, où nous étudions la mortalité suivant le germe isolé, donne facilement la clef de cette anomalie apparente.

Il montrera qu'il y a des *germes typhoïdiques « graves »* et des *germes plus « bénins »* et que justement ce sont les germes bénins qui ont prédominé dans d'énormes proportions en 1915-1916, quand le nombre des typhoïdiques était le plus élevé;

qu'inversement les germes « graves » prédominaient dans les années 1917-1918 où le nombre de cas était très restreint.

III. — Mortalité et nature du germe.

Les 5.987 hémocultures positives obtenues à l'hôpital central de Bar-le-Duc, du 1er août 1915 au 1er janvier 1919, se répartissent, au point de vue des germes isolés, en :

765	bacilles	*typhiques*	soit 12,77 p. 100
4.412	—	*paratyphiques A*	— 73,67 —
810	—	*paratyphiques B*	— 13,56 —

Sur les 273 décès survenus dans ces cas :

133	furent causés	par le	bacille typhique;
90	—	—	paratyphique A;
50	—	—	paratyphique B.

De sorte que, sur le chiffre global des décès :

48,89	p. 100	sont dus au	bacille typhique;
32,72	—	—	paratyphique A;
18,39	—	—	paratyphique B.

La prépondérance du rôle du bacille typhique dans la mortalité globale est déjà éclatante, puisqu'il lui revient, à peu près, la moitié du chiffre total des décès.

Mais elle est encore plus frappante si l'on compare ces chiffres au nombre des malades par espèces microbiennes; on voit, de prime abord, que le nombre de cas dus au T (765) est sept fois plus petit que ceux dus à A et B (4.412 A + 810 B).

Plus significative sera donc l'étude de la mortalité *dans chaque espèce microbienne* :

765	cas dus au	bacille	T	ont donné	133	décès, soit une	mortalité de	17,25 p. 100
4.412	—		A	—	90	—	—	2,01 —
810	—		B	—	50	—	—	6,17 —

Nous pouvons établir la mortalité, suivant les espèces microbiennes, *pour* 100 *cas de fièvre typhoïde*, du 1er août 1915 au 1er janvier 1919.

Pendant cette période furent observés :

$$765\ T + 1.412\ A + 810\ B = 5.987$$

d'où un pourcentage de :

$$12,77\ T + 74,67\ A + 13,56\ B = 100.$$

Le pourcentage de mortalité observé dans chaque espèce microbienne permet de déduire que ces 100 typhiques, de la période août 1915-janvier 1919, donnent, comme décès, soit :

2,20 décès par T; **1,49** décès par A; **0,85** décès par B.

Mais à propos de ces derniers chiffres, nous devons faire remarquer que la mortalité par A (quoique près de la moitié plus faible que celle due au T) se trouve être, par rapport à cette dernière, beaucoup plus grande qu'elle ne devrait l'être en réalité, c'est-à-dire en période ordinaire. Ceci provient du nombre certainement anormal de cas de paratyphoïde A qui surgirent dans l'armée en 1915 et 1916. Pour des raisons incomplètement expliquées, il y eut à ce moment une véritable explosion de Para A qui, malgré leur faible léthalité, surchargent, néanmoins, la statistique de mortalité par ce germe. Nous pensons qu'en période ordinaire (période de paix), le nombre des Para A est au moins 50 fois plus faible que ceux qui figurent dans notre statistique. (Voir plus loin les chiffres relevés pour les années 1917 et 1918 qui doivent se rapprocher de la normale.)

Si d'ailleurs nous résumons, pour les périodes que nous envisagions au début de cette étude, puis par trimestre les chiffres de morbidité dans chaque espèce microbienne et la mortalité correspondante, nous rendrons très évidentes les considérations précédentes, c'est-à-dire la prépondérance exceptionnelle et anormale du nombre de cas de A, dans les périodes rapprochées du début de la guerre, et l'importance croissante des cas de T, dans les chiffres de morbidité et de mortalité des années 1917 et 1918 qui doivent ressembler aux années d'endémie civile du temps de paix.

1er août 1915 au 1er avril 1916 (8 mois).

3.046 *hémocultures positives.* — *Décès* **88**, *Mortalité* **2,88** p. 100.

	HÉMO +	DÉCÈS	POUR 100 DÉCÈS typhoïdiques	POUR 100 CAS de chaque espèce microbienne
Espèces microbiennes.	209 (6,9 p. 100) T	14	15,9 de T	6,6 décès de T
	2.422 (79,4 —) A	45	51,1 de A	1,9 — A
	415 (13,7 —) B	29	32,9 de B	6,9 — B

Pour **100** *cas de fièvre typhoïde* : *Décès* **0,4** T + **1,6** A + **0,8** B = 2,88.

1er avril 1916 au 1er avril 1917 (12 mois).
2.674 *hémocultures positives* : *Décès* **156**, *Mortalité* **5,72** p. 100.

	HÉMO +	DÉCÈS	POUR 100 DÉCÈS typhoïdiques	POUR 100 CAS de chaque espèce microbienne
Espèces microbiennes.	440 (16,5 p. 100) T	99	63,4 de T	22,5 décès de T
	1.886 (70 —) A	39	25 de A	2 — A
	348 (13,5 —) B	18	11,6 de B	5,1 — B

Pour **100** *cas de fièvre typhoïde* : *Décès* **3,7** T + **1,4** A + **0,6** B = **5,72.**

1er avril 1917 au 1er janvier 1918 (9 mois).
203 *hémocultures positives* : *Décès* **22**, *Mortalité* **10,8** p. 100.

	HÉMO +	DÉCÈS	POUR 100 DÉCÈS typhoïdiques	POUR 100 CAS de chaque espèce microbienne
Espèces microbiennes.	80 (39 p. 100) T	15	68,7 de T	12,7 décès de T
	86 (42 —) A	5	20,8 de A	5,8 — A
	37 (19 —) B	2	9,9 de B	5,3 — B

Pour **100** *cas de fièvre typhoïde* : *Décès* **7,3** T + **2,5** A + **1** B = **10,8.**

1er janvier 1918 au 1er janvier 1919 (12 mois).
63 *hémocultures positives* : *Décès* **7**, *Mortalité* **11,11** p. 100.

	HÉMO +	DÉCÈS	POUR 100 DÉCÈS typhoïdiques	POUR 100 CAS de chaque espèce microbienne
Espèces microbiennes.	35 (55 p. 100) T	5	71 de T	14,32 décès de T
	18 (18 —) A	1	14,5 de A	5,55 — A
	10 (16 —) B	1	14,5 de B	10 — B

Pour **100** *cas de fièvre typhoïde* : *Décès* **7,7** T + **1,5** A + **1,9** B = **11,11.**

Ces chiffres montrent que : 1° Au point de vue de la mortalité dans chaque espèce microbienne, pour l'A, la mortalité est, dans les deux premières périodes, plus basse que 2 p. 100. Elle s'élève à 5 p. 100, pour les dernières périodes. Pour le B, la mortalité est constante aux environs de 6 p. 100; pour le T,

sauf pour la première période où elle est de 6,6 p. 100, la mortalité se tient aux environs de 20 p. 100.

2° Au point de vue du rôle de chaque espèce dans la mortalité globale : pendant la première période, le très grand nombre de cas de A donne à l'A une importance anormale dans les chiffres de mortalité. Pour les périodes suivantes, le T, malgré le petit nombre de cas, fournit beaucoup plus de morts à lui seul que le B et l'A réunis.

Ces mêmes faits vont nous apparaître dans le détail des chiffres trimestriels.

Voici d'abord (tableau I) le pourcentage des espèces microbiennes dans la composition du chiffre trimestriel des décès.

Le tableau II indique la mortalité dans chaque espèce microbienne. Il rend bien compte du degré de gravité de chaque espèce qui se maintient en somme assez constante, de trimestre en trimestre.

On voit qu'au cours des divers trimestres, la mortalité pour les cas de B se maintient entre 7 et 11 p. 100; pour les cas de A elle dépasse rarement 2 p. 100; pour les cas de T, rarement plus basse que 10 p. 100, elle s'élève souvent à 15, 25 et 35 p. 100.

Il est également intéressant d'établir, pour chaque trimestre, *combien* 100 *cas de fièvre typhoïde ont donné des décès T, A ou B*. Cela nous est facile, connaissant le pourcentage des espèces dans le chiffre des hémocultures positives et la mortalité dans chaque espèce microbienne (tableau III).

On voit que, pour 100 typhoïdiques, la mortalité est croissante au fur et à mesure qu'on avance dans les années 1916 et 1917-1918. L'A fournit 2 ou moins de 2 décès — et ceci constamment — sauf un chiffre accidentel au deuxième trimestre 1917. De même le B fournit constamment moins de 2 (et même en général moins de 1) décès.

Au contraire, les décès par T augmentent progressivement et dépassent 6 et 7 pour 100 typhoïdiques en 1917-1918.

Ces tableaux montrent, en résumé, l'augmentation progressive du nombre de typhoïdes T, l'augmentation progressive de la

TABLEAU I. — **Pourcentage des espèces microbiennes dans les chiffres des décès par trimestre.**

	DÉCÈS				POUR 100 DÉCÈS TYPHOÏDIQUES		
	T	A	B	TOTAL	T	A	B
1915 Août . . . . . — Septembre	7	15	14	36	18,8	40,8	40,4
1915 Octobre . . . . . — Novembre . . . . . — Décembre	4	19	14	37	10,8	51,4	37,8
1916 Janvier . . . . . — Février . . . . . — Mars	3	11	1	15	20	73,3	6,6
1916 Avril . . . . . — Mai . . . . . — Juin	18	6	8	32	55,5	19	25,5
1916 Juillet . . . . . — Août . . . . . — Septembre	54	24	9	87	62,5	27	10,5
1916 Octobre . . . . . — Novembre . . . . . — Décembre	22	8	0	30	72,8	27,2	0
1917 Janvier . . . . . — Février . . . . . — Mars	5	1	1	7	67	16,5	16,5
1917 Avril . . . . . — Mai . . . . . — Juin	1	2	0	3	33,3	66,6	0
1917 Juillet . . . . . — Août . . . . . — Septembre	8	1	0	9	88,8	11,2	0
1917 Octobre . . . . . — Novembre . . . . . — Décembre	6	2	2	10	60	20	20
Année 1918	5	1	1	7	71,42	14,29	14,29

TABLEAU II. — **Mortalité trimestrielle dans chaque espèce microbienne.**

DATES	HÉMO + TOTAL	HÉMO + et p. 100			DÉCÈS			MORTALITÉ dans chaque espèce microb.		
		T	A	B	T	A	B	T	A	B
1915 Août — Sept.	740	0/0 120=16,2	0/0 425=57,4	0/0 195=28,4	7	15	14	0/0 5,8	0/0 3,5	0/0 7,1
1915 Oct. — Nov. — Déc.	1688	39= 2,3	1.466 =86,8	183=10,9	4	19	14	10,2	1,3	7,6
1916 Janv. — Fév. — Mars	618	50= 8,1	531=86	37= 5,9	3	11	1	6	2	2,7
1916 Avril — Mai. — Juin.	604	120=19,8	390=64,5	94=15,7	18	6	8	15	1,5	8,5
1916 Juill. — Août — Sept.	1393	220=15,7	956=69	217=15,3	54	24	9	24,5	2,5	4,1
1916 Oct. — Nov. — Déc.	557	83=14,9	446=80	28= 5	22	8	0	26,5	1,8	
1917 Janv. — Fév. — Mars	120	17=14,2	94=78,3	9= 7,5	5	1	1	35,3	1	11,1
1917 Avril — Mai. — Juin.	16	8=50	5=31,2	3=18,7	1	2	0	12,5	40	
1917 Juill. — Août — Sept.	94	30=31,9	49=52,2	15=15,9	8	1	0	26,6	2	
1917 Oct. — Nov. — Déc.	93	42=43,1	32=34,4	19=20,5	6	2	2	14,2	6,2	10,5
Année 1918	63	35=55,5	18=28,5	10=16	5	1	1	10,52	5,5	10

TABLEAU III. — **Mortalité trimestrielle (pour 100 cas de fièvre typhoïde). Composition en espèces microbiennes du chiffre de mortalité.**

DATES	MORTALITÉ GLOBALE	T			A			B		
		HÉMO +	MORT de T	DÉCÈS pour 100 typh.	HÉMO +	MORT de A	DÉCÈS pour 100 typh.	HÉMO +	MORT de B	DÉCÈS pour 100 typh.
	0/0	0/0	0,0		0/0	0/0		0/0	0/0	
1915 Août. — Sept.	4,8	16,2	5,8	**6,3**	57	3,5	**2,2**	28	7	**2,2**
1915 Oct. — Nov. — Déc.	2,2	2,3	10,2	**0,2**	86,8	1,3	**1,1**	11	7,6	**0,8**
1916 Janv. — Févr. — Mars	2,5	8,1	6	**0,5**	86	2	**1,9**	6	2,7	**0,16**
1916 Avril — Mai. — Juin.	5	19,8	15	**2,9**	64	1,5	**0,9**	16	8,5	**1,3**
1916 Juill. — Août. — Sept.	6,3	15,7	24,5	**3,9**	69	2,5	**1,8**	15	4	**0,7**
1916 Oct. — Nov. — Déc.	5,3	19	26,5	**3,9**	80	1,8	**1,4**	5	0	0
1917 Janv. — Fév.. — Mars	5,7	14,2	35,3	**1,8**	78	1	**0,6**	7,5	11	**0,7**
1917 Avril — Mai. — Juin.	18,6	50	12,3	**6,4**	31	40	**12,2**	18	0	0
1917 Juill. — Août — Sept.	9,3	31,9	26,6	**8,3**	52	2	**1**	16	0	0
1917 Oct. — Nov. — Déc.	10,6	45	14,2	**6,4**	34	6,2	**2,1**	20	10,5	**2,1**
1918 12 mois.	11,1	55,5	10,4	**7,7**	28	5,5	**1,5**	16	10	**1,9**

mortalité et la prédominance considérable des décès causés par le T même quand les A et B prédominent dans la morbidité (1).

IV. — Mortalité et vaccination.

On trouvera au tableau IV le relevé trimestriel de l'état de vaccination des décédés.

Les états de vaccination ont été établis d'après les dires des malades corroborés par les inscriptions des livrets.

On voit pour chaque espèce microbienne le nombre de cas ayant reçu la vaccination T ou T A B, le nombre des injections pratiquées, et ceux qui n'ont reçu aucune espèce de vaccination.

Rien n'est plus difficile que les études et les enquêtes sur les résultats de la vaccination, pour de multiples raisons dont la principale, en dehors du doute qui peut s'élever sur les dires d'un malade, est que nous ne sommes pas fixés sur le point de savoir quels sont ceux des sujets qu'il faut considérer comme véritablement vaccinés? Quel est le nombre d'injections nécessaires à la vaccination complète? au bout de combien de temps l'effet vaccinal est-il périmé?

Remarquons aussi tout de suite que notre étude ne porte que sur l'état de vaccination des seuls décédés. Nous ne pouvons actuellement faire l'étude de l'état de vaccination des malades non décédés, masse énorme qu'il est du plus haut intérêt d'opposer aux chiffres ci-dessous (2).

(1) On a vu qu'aux premiers mois de l'épidémie typhoïdique la mortalité paraît avoir été incomparablement plus grande que celle que nous avons déduite de nos statistiques de juillet 1915 à janvier 1919: il y aurait eu de novembre 1914 à avril 1915, 58.014 cas aux Armées avec 7.013 décès, soit une mortalité de 15,32 p. 100, chiffres publiés par le médecin inspecteur Simonin (*loco citato*). Cette gravité plus grande peut tenir aux fatigues, aux conditions sanitaires et thérapeutiques défectueuses du début. Mais on peut se demander si elle n'a pas tenu surtout à la *nature du germe en cause*. Or, dans notre formation, de novembre 1914 à février 1915, M. Lortat-Jacob (cité par Lebœuf et Braun, *loco citato*) trouva une proportion de 90, 4 p. 100 de bacilles T sur 100 hémo-positives. C'est cette énorme prédominance du T qui a dû faire la grande gravité de l'endémie du début de la guerre.

L'explosion de A de 1916-1917 est d'essence infiniment plus bénigne. Le T tend à reprendre la prédominance en fin de 1917, mais la morbidité est devenue infime, l'endémie étant virtuellement éteinte.

(2) Un travail plus complet « Etude sur l'état de vaccination de 2.334 typhoïdiques à hémoculture positive » paraîtra prochainement.

TABLEAU IV. — **Relevé trimestriel de l'état de vaccination des décédés.**

	TOTAL DES DÉCÈS	Décès T — VACCINÉS — T Nombre d'injections				TAB Nombre d'injections				NON-VACCINÉS	Décès A — VACCINÉS — T Nombre d'injections				TAB Nombre d'injections				NON-VACCINÉS	Décès B — VACCINÉS — T Nombre d'injections				TAB Nombre d'injections				NON-VACCINÉS
		1	2	3	4	1	2	3	4		1	2	3	4	1	2	3	4		1	2	3	4	1	2	3	4	
1915 Août — Sept.	36	1	2	1	1					2		2	2	5					6	2	2		1					10
1915 Oct.. — Nov. — Déc.	37		1	2	3							2	4	6					3	1	3	6	2					3
1916 Janv. — Févr. — Mars.	15	1			1		1					2	1	1	2				4			1						
1916 Avril — Mai.. — Juin.	32	2		6	5	2	3	1		2		1				2	1		1	2			2					2
1916 Juill. — Août — Sept.	87	3	4	7	20	3	3	1		13		4	2	7	1	5	1		3	1		1	5			1		1
1916 Oct.. — Nov. — Déc.	30	1	3	2	2	1	2			11		1	4			2	5		1									
1917 Janv. — Févr. — Mars	7		1	1			1			2				1													1	
1917 Avril — Mai.. — Juin.	3								1							2												
1917 Juill. — Août — Sept.	9			1				1		6				1														
1917 Oct.. — Nov. — Déc.	10	1		1					1	3						2							1			1		
1918 12 mois.	7				1		1			3								1										1
Totaux. .	273	8	11	21	33	6	10	4	2	42		12	14	20		13	7	1	18	6	5	8	11			2	1	17

Quoi qu'il en soit, un simple coup d'œil au tableau des états de vaccination de nos décédés montre que de toutes les colonnes, la plus chargée, pour chaque espèce microbienne, est celle des non-vaccinés :

Dans les décès par T = 42 non-vaccinés.
— A = 18 —
— B = 17 —
—
Soit un total de . . . . 77 non-vaccinés sur 275 décès,

c'est-à-dire un pourcentage de 28,2 p. 100 d'officiellement non-vaccinés sur le total des décès.

C'est là un chiffre très considérable si l'on envisage que la proportion des non-vaccinés officiellement est très minime dans l'armée. C'est ainsi que nous avons fait une enquête à la fin de 1915 et au commencement de 1916 (à une époque où la vaccination était loin d'être aussi généralisée qu'elle l'a été plus tard). Or, déjà à ce moment, sur 1.000 malades entrés pour des affections diverses nous n'avons trouvé que 142 officiellement non-vaccinés, pour 858 vaccinés (à des degrés variables de perfection vaccinale).

Ainsi c'est déjà un indice gravement révélateur que ce si petit nombre de non-vaccinés, eu égard au nombre énorme de vaccinés, fournissant à eux seuls près de 30 p. 100 des décès.

Mais si on veut bien examiner les choses de plus près (et en matière de vaccination on ne saurait trop approfondir et interpréter), de quoi se composent les sujets dits vaccinés ?

Un certain nombre d'entre eux ont reçu 3 et 4 vaccinations T ou T A B. Mais une assez grande quantité n'ont reçu qu'une injection ou plusieurs injections, à intervalles lointains et irréguliers.

De plus, on s'aperçoit que parmi ces décès la majorité n'a reçu que du vaccin T, preuve qu'ils ont dû être vaccinés avant septembre 1915, époque à laquelle le vaccin A B ou T A B est entré en vigueur ; c'est ce que nous avons vérifié en recourant aux dates de vaccination de ces malades.

Tous ceux de ces derniers qui ont succombé à partir du troisième trimestre 1916 avaient donc été vaccinés plus d'un an avant l'époque où ils ont été infectés : or on estime l'effet vaccinal éteint un an environ après la vaccination.

Nous sommes amenés à considérer comme insuffisamment vaccinés les sujets n'ayant reçu qu'une ou plusieurs injections irrégulières et ceux qui furent injectés plus d'un an avant leur maladie.

Nous trouvons ainsi 75 *de nos décédés qui n'ont eu qu'une ou deux injections de T ou de T A B* et 58 *qui furent vaccinés plus d'un an avant leur maladie*; joints aux 77 officiellement non-vaccinés cela fait un total de 210 *non-vaccinés ou insuffisamment vaccinés sur* 273 *décès*, soit *près de* 77 *p.* 100 *des décès* (exactement 76,92 p. 100).

L'énormité de ce chiffre apparaîtra encore plus si, comme tout à l'heure, on veut bien se souvenir que ces sujets non vaccinés ou insuffisamment vaccinés sont en grande minorité dans l'armée.

Il est intéressant d'envisager l'état de vaccination suivant l'espèce microbienne qui a causé la mort.

Sur **133** *décès par le T* :

42 *n'étaient pas vaccinés*, soit **31,6** p. 100 *des décès*;
19 n'avaient reçu qu'une ou 2 injections de vaccin T;
14 — — TAB trop espacées;
35 avaient reçu 3 à 5 injections de T plus d'un an avant leur maladie.

Soit **68** *insuffisamment vaccinés* . . . . . = **51,1** p. 100 *des décès*.

23 étaient complètement vaccinés { (19 au T) . (4 au TAB) } = **17,3** — —

Sur **90** *décès par l'A* :

24 *n'étaient pas vaccinés* ou avaient reçu un vaccin non spécifique, soit **26,6** p. 100 *des décès*;
12 n'avaient reçu que 2 injections de T;
16 — — TAB trop espacées;
29 avaient reçu 3 à 5 injections de T ou TAB plus d'un an avant leur maladie.

Soit **57** *insuffisamment vaccinés*. . . . . = **63** p. 100 *des décès*.

9 étaient complètement vaccinés (9 au TAB). . = **10,4** — —

Sur **50** *décès par le B* :

47 *n'étaient pas vaccinés*, ou avaient reçu un vaccin non spécifique (T), soit 93,9 p. 100;
3 étaient complètement vaccinés (TAB), soit 6,1 p. 100.

On voit combien le *pourcentage des vaccinés complets est minime parmi les décédés.*

Quoique minimes, ces chiffres étonneront peut-être ceux qui pensent que la vaccination complète confère une immunité « absolue ». Mais il convient de se rappeler que le plus grand

nombre des décès se sont produits à une époque où la quantité des typhoïdiques était plus que le décuple de celle des périodes normales (1.688 hémopositives au quatrième trimestre 1915, pour 94 au quatrième trimestre 1917). Le chiffre de la *mortalité* des sujets vaccinés, rapporté au chiffre de la *morbidité* des sujets vaccinés que nous ne pouvons établir actuellement, se trouverait sans doute extrêmement minime.

Il y a intérêt à considérer les variations de l'état de vaccination des décédés suivant les époques, sur le tableau trimestriel qui est en tête de ce chapitre.

On y verra notamment la *prédominance croissante des décès par T* portant chez les *insuffisamment vaccinés* ou les *non-vaccinés*.

Pour ne parler que des *complètement non-vaccinés* on voit qu'à partir du quatrième trimestre 1916, ils constituent plus de 50 *p.* 100 *des décès par T*, et *plus de* 75 *p. 100 au troisième trimestre* 1917. C'est d'ailleurs un point que nous avons vérifié en 1918 et sur lequel nous nous proposons de revenir, que la *tendance des sujets non vaccinés à contracter des typhoïdes à bacilles T.*

Il semble que plus on se rapproche de la fin de la guerre, plus les décès ont tendance à être causés par des typhoïdes T chez les non-vaccinés.

V. — Mortalité. Circonstances de guerre et circonstances naturelles. Poussées épidémiques.

On est naturellement en droit de penser que les circonstances de guerre : périodes de grandes attaques, fatigues, surmenage et accumulation de troupes, difficulté d'approvisionnements, lenteur de l'évacuation des malades, sont facteurs de gravité, facteurs difficiles à faire entrer en ligne de compte dans des statistiques numériques. Ce qui est certain, c'est qu'ils agissent sur la morbidité et l'augmentation du nombre des malades ; mais leur action sur la mortalité nous est apparue d'une façon beaucoup moins nette, ou pour mieux dire, problématique. Ces circonstances de surmenage seraient à coup sûr marquées sur la mortalité, *si toutes choses étaient égales d'ailleurs au point de vue microbien.* Il n'en a pas été

ainsi, nous l'avons vu, et comme c'est la nature du germe qui avant tout conditionne la mortalité, le rôle des circonstances extérieures apparaît comme très accessoire.

C'est ainsi qu'en se reportant aux chiffres et aux graphiques de notre premier chapitre on voit que plus la guerre « vieillit », c'est-à-dire en principe plus les moyens de transport et les mesures thérapeutiques s'amendent, plusl'épidémie diminue, plus la *mortalité augmente*. Nous avons donné l'explication de cet apparent paradoxe, en montrant qu'il tenait à la prépondérance que reprend le T (germe grave) sur l'A (germe bénin) qui lui a accidentellement usurpé sa place.

L'influence de la nature du germe causal domine donc toutes les autres circonstances. Nos statistiques trimestrielles (tableau n° I) montrent pourtant une grande recrudescence de cas et de décès, pendant le deuxième trimestre 1916, qui suivit les grandes attaques allemandes sur les secteurs de Verdun d'où venaient nos malades. Encore ne pouvons-nous affirmer qu'elles aient, à coup sûr, influencé les statistiques, car ce même tableau montre que, pour chaque année, le maximum des cas et des décès appartient au deuxième semestre. L'influence *saisonnière* peut donc avoir agi au même titre que les autres circonstances. *Le maximum de l'épidémie nous semble toujours proche du milieu de l'année*, le *minimum au commencement de l'année.*

Quelle est l'influence des *poussées épidémiques* sur la mortalité ? Nous avons déjà eu l'occasion autre part (1) de dire ce que nous pensions de l'existence de poussées épidémiques vraies de typhoïde pendant cette guerre, dans nos secteurs.

L'apparition d'un grand nombre de cas, dans un court espace de temps, dans une même unité militaire a été rare. Les diverses unités militaires fournissaient dans le même temps, approximativement, le même nombre de malades (avec présence de trois espèces de germes), dans des proportions variables. Il y eut donc endémie permanente, plutôt qu'épidémies.

Pourtant, nous avons eu l'occasion de noter l'apparition d'*épidémies vraies*, dans certaines unités, au cours de l'endémie générale. Et nous avons fait remarquer ce fait, qu'en général,

(1) Pierre Hébert et Marcel Bloch, Epidémies typhoïdiques unimicrobiennes. *Soc, méd. des Hôp.*, 27 juillet 1917, p. 940.

ces épidémies vraies sont unimicrobiennes, causées par une seule espèce de germe.

Il est d'un grand intérêt de tenter de voir l'influence sur la mortalité de ces épidémies vraies.

Voici quelques exemples de ces épidémies :

En quinze jours (1er au 16 mai) une seule compagnie (3e) du ...e d'infanterie, à l'exclusion de toutes les autres compagnies, est décimée par la fièvre typhoïde. Sur 45 malades entrés à notre hôpital, 37 eurent une hémoculture positive : 37 fois la différenciation montra qu'il s'agissait de *Para A*, jamais de B ni de T. *Aucun décès ne survint.* Mortalité nulle.

En septembre-octobre 1916, la compagnie 8/57 du ...e génie envoie 5 typhoïdiques, tous atteints de *Para A. Pas de décès.*

En juillet, août 1916, la compagnie 14/15 du ...e génie envoie 10 typhoïdiques. Tous dus au *bacille T.* 3 *décès.*

En octobre, la même compagnie envoie 4 *Para A.* 0 *décès.*

En juillet, août 1916, la compagnie 1/41 du ...e génie envoie 8 typhoïdiques :

6 *par le T* donnent 2 *décès*;
2 *par le B* — 0 —

Ainsi il apparaît bien que, même au cours de ces épidémies vraies « explosives » causées par une seule espèce de germe, c'est la *nature de ce germe qui détermine la mortalité, bien plus que le facteur « épidémie » par lui-même.*

Faut-il envisager, dans chaque espèce de germe, des variations de gravité? Le fait est possible, on pourrait indiquer à son appui certains faits; ainsi à la même époque que les épidémies précédentes, la compagnie 8/52 du ...e génie fournit 8 typhoïdiques (juin-juillet 1916), tous à *bacille T* sans qu'il y eût un décès.

VI. — Causes de mort. Complications.

Grâce aux autopsies, au nombre de 273, que nous avons pratiquées ou dont nous avons étudié les protocoles, nous avons pu noter, pour la plupart des décès, les lésions observées et les circonstances qui ont entraîné la mort, chez les sujets à bacille identifié. Nous allons d'abord donner, par

ordre de fréquence, les causes de mort et les complications notées.

a) La cause de mort la plus importante — elle est relevée 52 fois — c'est le syndrome que les médecins traitants ont désigné tantôt sous le nom de forme « ataxo-adynamique », tantôt sous celui « d'hyperinfection », ou de « toxémie », ou de « myocardite » (?) Cette dernière dénomination a été appliquée par beaucoup de médecins aux formes avec tachycardie terminale. En réalité, toutes ces appellations concernent des formes de typhoïde, où l'autopsie révèle une dégénérescence profonde, mais d'intensité à peu près égale, de tous les organes, sans prédominance spéciale sur l'un d'eux, ni complications apparentes.

b) Dans 50 autopsies furent constatées des lésions graves du *gros intestin*, susceptibles d'avoir entraîné la mort ou fortement contribué à la provoquer. Cette proportion de lésions coliques graves pourra surprendre, car elle est beaucoup plus élevée que celle des statistiques classiques. Il faut distinguer deux ordres de lésions coliques graves. D'une part, le « colotyphus » proprement dit, localisation du bacille typhique sur le gros intestin. D'autre part, la « dysenterie bacillaire » associée à la fièvre typhoïde; vérifiée bactériologiquement, cette association fut très fréquente à l'époque où coïncidaient les deux endémies typhoïdiques et dysentériques. C'est une question dont nous ferons l'objet d'un travail spécial.

c) La troisième place pour la fréquence dans les causes de mort revient à l'exagération des lésions intestinales :

Perforations . . . . . relevées 31 fois;
Hémorragies graves. . . notées 19 fois.

Nous reviendrons sur elles pour montrer que c'est un des points où se montre, de la façon la plus apparente, la différence d'action anatomo-pathologique des trois espèces de germes T. A. ou B.

d) Les *complications pleuro-pulmonaires* viennent ensuite, car elles sont notées 47 fois pour cause de mort se décomposant en :

Lésions pneumoniques . . . . . 15 fois.
— broncho-pneumoniques. . . 22 —

Infarctus pulmonaires	4 fois.
Pleurésies purulentes.	5 —
Gangrène pulmonaire.	1 —

e) La *tuberculose aiguë* est apparue 7 fois.

f) La *néphrite, l'urémie ou le syndrome d'hépato-néphrite* est relevé 11 fois.

g) L'association avec la *diphtérie*, 13 fois.

C'est là une révélation des agglomérations militaires de cette guerre ; car nous croyons que cette association fut très rarement notée dans la pratique civile. Des renseignements que nous avons recueillis nous font penser qu'avant la date où commence notre statistique, c'est-à-dire dans la première année de la guerre, cet accident fut encore bien plus fréquent (1).

h) Les *parotidites suppurées* sont notées 6 fois.

i) Les *formes hémorragiques* avec purpura et hémorragies diffuses sont relevées 6 fois.

j) La *mort subite* s'est produite 8 fois. Ce chiffre ne comprenait que des cas de fin dramatique et instantanée, sans raison ni lésions apparentes.

k) Nous énumérerons maintenant, avec leur fréquence, les accidents plus rarement notés :

Accidents cérébraux [hémiplégie, encéphalite (?)].	6 cas.
Péricardite suppurée.	6 —
Endocardite.	1 —
Pyohémie généralisée	1 —
Infarctus et abcès du rein	3 —
Infarctus et abcès de la rate	4 —
Hématuries.	3 —
Rupture de la rate	1 —
Gangrène bucco-pharyngée.	4 —
Appendicite perforante.	3 —
Péritonites localisées.	4 —
Adénite suppurée du mésentère	1 —
Abcès des muscles grands droits	1 —
Artérites	2 —
Phlébites	3 —
Laryngo-typhus	1 —

(1) C'est en faisant systématiquement des recherches bactériologiques dans des cas étiquetés « mort par fièvre typhoïde avec gangrène du voile du palais », que nous nous sommes aperçus que ces soi-disant gangrènes du voile du palais étaient en réalité des diphtéries terminales au cours de fièvres typhoïdes.

Surrénalite hémorragique	1 cas.
Pancréatite hémorragique	1 —
Pyélo-néphrites	2 —
Dysenterie amibienne associée	3 —
Cachexie lente mortelle	4 —
Grippe associée	1 —

l) Enfin, notons que dans 10 cas, c'est au cours d'une *rechute* que la mort est survenue.

Le grand nombre de cas (hémocultures positives) et de décès sur lesquels porte notre étude donne aux chiffres précédents une réelle valeur comme indice de fréquence des diverses complications et causes de mort dans la typboïde.

On voit immédiatement dans le dernier paragraphe celles des complications qui sont très exceptionnelles. D'autres, comme la diphtérie, la dysenterie bacillaire associées sont, malgré leur fréquence, de véritables épisodes de guerre qu'on aura peu de chance de rencontrer dans la pratique de la paix.

Mais pour les autres causes de mort classiques, nos chiffres vont nous permettre d'établir des *pourcentages* d'une rigueur d'ordre presque mathématique.

a) Les *décès par formes « hypertoxiques »*, « *toxémiques* », « *ataxo-adynamiques* », sans localisation spéciale des lésions se sont produites 52 fois sur 260 décès. Elles sont donc à incriminer dans 20 p. 100 des cas de mort.

L'exagération des lésions intestinales (*perforations*, *hémorragies*), survenue 50 fois, forme également près de 20 p. 100 des causes de mort (perforation 12 p. 100, hémorragies près de 7 p. 100).

Les *complications pleuro-pulmonaires graves* sont notées dans plus de 17 p. 100 des cas de mort.

La *Tuberculose aiguë* intervient dans près de	3	p. 100	des décès.
Les *Lésions rénales graves* dans	4	—	—
Les *Parotidites suppurées* dans	3	—	—
Les *Formes hémorragiques* dans	3	—	—
La *Mort subite* dans	3	—	—

L'ensemble des *causes rares de mort* (avec la diphtérie et la dysenterie que nous avons mises à part) forme 43 p. 100 des décès.

Enfin, pour 4 p. 100 des décès, il s'agissait d'un accident au cours d'une rechute.

b) Il est intéressant de rapporter ces causes de mort au chiffre *total des malades envisagés* (hémocultures positives 5.987).

On voit alors que moins de 1 p. 100 des malades (exactement 0,8 p. 100, soit la majorité des décès) sont morts avec des formes hypertoxiques sans localisation anatomique prédominant d'une façon apparente sur un organe,

0,5 p. 100	des malades	ont fait des	perforations mortelles.
0,3 —	—		hémorragies mortelles.
0,7 —	—		complications pleuro-pulmonaires.
0,1 —	—		de la tuberculose aiguë.
0,2 —	—		des complications rénales graves.
0,1 —	—		des parotidites suppurées.
0,1 —	—		des formes « hémorragipares ».
0,1 —	—		sont morts subitement.

L'ensemble des causes rares avec la dysenterie et la diphtérie a frappé un peu moins de 2 p. 100 des malades.

Moins de 0,1 p. 100 des malades meurent au cours d'une rechute.

c) Enfin il nous paraît de grand intérêt de *rapporter ces causes de mort à l'espèce microbienne infectante*. On entrevoit là des différences appréciables sur le mode d'action des divers germes.

1° C'est ainsi que sur les 52 formes « *hypertoxiques* » *mortelles*, 33 furent des formes à bacilles T, 14 à bacilles A, 5 à bacilles B.

Le bacille T fournit donc 6 fois plus de ces formes que le B, et près de 3 fois plus que l'A.

Sur le total des décès	par T (135),	près de 25 p. 100	sont dus à des formes	hypertoxiques.
—	par A (90),	— 15,5 p. 100		—
—	par B (50),	— 10 p. 100		—

Sur le total des hémocultures	T (766),	4,3 p. 100	meurent de formes	hypertoxiques.
—	— A (4.412),	0,3	—	—
—	— B (810),	0,6	—	—

2° Sur les 31 *perforations* :

24	sont survenues	dans des formes	à bacilles T
3	—	—	A
4	—	—	B

Sur les 19 hémorragies mortelles :

16	sont survenues dans des formes à bacilles		T
2	—	—	A
1	—	—	B

Ces chiffres montrent avec une évidence surprenante l'énorme différence d'action anatomique des 3 espèces infectantes. Elle va apparaître encore mieux, en rapportant au nombre des malades le nombre de ces accidents. Il en ressort que les *lésions destructives intestinales, sans être l'apanage exclusif du T, constituent néanmoins dans ces formes un risque de mort infiniment plus fréquent que pour l'A et le B.*

Sur le total des décès par T (133) :
18 p. 100 surviennent avec Perforation.
12 — — Hémorragie.
Sur le total des décès par A (90) :
3 p. 100 surviennent avec Perforation.
2 — — Hémorragie.
Sur le total des décès par B (50) :
8 p. 100 surviennent avec Perforation.
2 — — Hémorragie.
Sur le total des hémocultures T (763) :
3 p. 100 meurent avec Perforation.
2 — — Hémorragie.
Sur le total des hémocultures positives A (4.412) :
0,06 p. 100 meurent avec Perforation.
0,04 — — Hémorragie.
Sur le total des hémocultures positives B (810) :
0,5 p. 100 meurent avec Perforation.
0,1 — — Hémorragie.

3° Les lésions hépatiques et rénales graves semblent également être surtout conditionnées par le T. En effet, dans les cas mortels, nous relevons 8 cas dus au T, 2 à l'A, 1 au B.

4° Même prédominance du T dans l'apparition des *parotidites suppurées.*

5 cas dans les formes T ; 1 dans les formes A ; 2 dans les B.

Nous répétons que tous les chiffres sont encore plus frappants quand on se souvient que notre statistique comporte 6 fois plus de A que de T.

5° 6 cas de tuberculose aiguë sont survenus au cours de typhoïdes T contre un seul cas au cours de A et un cas de tuberculose rénale à marche rapide pour le B.

6° Ces chiffres nous forcent à admettre l'action beaucoup plus déprimante, toxique et anatomiquement profonde du T. Pour les autres complications, la proportion est à peu près égale pour les trois espèces.

Complications pulmonaires graves.	28 cas T	21 cas A	6 cas B
Formes hémorragiques	3 —	2 —	1 —
Infarctus.	4 —	2 —	1 —
Rupture de la rate.	1 —		
Péricardite.	1 —	3 —	1 —
Diphtérie.	8 —	6 —	1 —
Gangrène buccale	2 —	1 —	1 —
Appendicite perforante	2 —	1 —	
Artérites.		2 —	
Laryngolyphas			1 —
Surrénalite hémorragique	1 —		
Pancréatite aiguë	1 —		
Adénite suppurée du mésentère. . .		1 —	
Pyélonéphrites.	1 —	1 —	
Péritonites localisées	1 —	2 —	1 —
Cachexie progressive	2 —	2 —	

Nous relevons deux anomalies curieuses dans notre statistique. Les relevés d'autopsie ne mentionnent pas de mort subite pour les formes T.

Par contre elle s'est produite 6 fois pour l'A, 2 fois pour le B.

D'autre part, pour les rechutes mortelles 3 étaient de formes à T et 7 de formes à A.

III. — RECHERCHE DES BACILLES TYPHIQUES ET PARATYPHIQUES DANS LES SELLES ET DANS LES URINES DES MALADES ATTEINTS D'AFFECTIONS TYPHOIDES

Nous avons recherché les bacilles typhiques et paratyphiques dans les selles et dans les urines de malades atteints d'affections typhoïdes.

Nous n'avons choisi que des malades dont le germe, isolé par hémoculture, avait été identifié par les réactions biochimiques et agglutinatives usuelles.

Nous avons examiné 447 selles appartenant à 43 malades.

TECHNIQUE

Les matières diluées dans un peu d'eau physiologique étaient semées sur deux boîtes de gélose lactosée tournesolée, l'une des boîtes était ensemencée par stries parallèles, à l'aide d'une anse de platine coudée; on étalait sur toute la surface de l'autre une gouttelette de la dilution fécale, à l'aide d'un répartiteur.

Dans un grand nombre de cas, nous avons tenté de réaliser un isolement relatif des germes cherchés en semant les matières diluées dans un tube d'eau peptonée additionnée de vert malachite au 1/200. Après vingt-quatre heures d'étuve, on ensemençait à l'aide de la culture obtenue deux boîtes de gélose lactosée tournesolée selon le mode indiqué plus haut. Ces deux procédés donnent des résultats sensiblement égaux.

Pour rechercher les bacilles dans les urines, nous centrifugions 10 cent. cubes d'urine et semions le culot sur deux boîtes de gélose lactosée tournesolée à l'aide de l'anse de platine coudée et du répartiteur.

Les colonies bleues prélevées étaient repiquées sur gélose inclinée et eau peptonée pour isolement. L'identification des microbes était obtenue par l'étude de leurs réactions bio-chimiques sur gélose glucosée profonde, gélose au plomb et lait tournesolé, un tube d'eau peptonée servait à l'agglutination et à la recherche de l'indol.

Nous n'avons trouvé, lorsqu'il existait des bacilles typhiques ou paratyphiques, que des germes réguliers, à réactions franches, tant biologiques qu'agglutinatives. Les colonies étaient très généralement assez nombreuses sur une même boîte (1).

1° Nombre des porteurs de germes. Pourcentage des selles ou urines positives.

Nous avons trouvé 21 malades porteurs de germes sur 43 sujets examinés, soit 48,8 p. 100 des malades; 52 selles ou urines

(1) Nous tenons à remercier notre ami, M. le docteur Hanotte, pour le réel secours qu'il nous apporta dans ces nombreuses manipulations durant son trop court séjour à Bar-le-Duc.

sur les 447 étudiées contenant des bacilles, soit 11,6 p. 100 des selles ou mictions.

2° Rapport du nombre des résultats positifs avec la période de la maladie à laquelle étaient examinées les selles et les urines.

a) Période d'état. — 135 selles ou urines appartenant à 20 malades à la période d'état ont donné 24 résultats positifs. Ces 24 selles, soit 17,7 p. 100 des selles examinées, appartenaient à 8 malades, soit 40 p. 100 du nombre total des malades à la période d'état.

b) Période de défervescence. — 120 selles ou urines appartenant à 32 malades à la période de défervescence ont donné 21 résultats positifs. Ces 21 selles, soit 17,5 p. 100 des selles examinées, appartenaient à 11 malades, soit 34,3 p. 100 du nombre total des malades à la période de défervescence.

c) Période de convalescence. — 133 selles ou urines appartenant à 27 malades à la période de convalescence ont donné 18 résultats positifs. Ces 18 selles soit 11,7 p. 100 des produits examinés, appartenaient à 7 malades, soit 25 p. 100 du nombre total des malades examinés à la période de convalescence.

d) Rechute. — Au cours d'une rechute, 3 selles ou urines examinées se sont montrées négatives. Les selles du même malade avaient déjà donné un résultat négatif lors de leur examen dans la période d'état de la maladie.

e) Complications. — Une perforation suivie de péritonite localisée se produisit chez un de nos malades ; 15 selles ou urines examinées depuis cette perforation donnèrent 6 résultats positifs à partir du dixième jour qui suivit la perforation. Les examens des jours qui précédèrent la perforation et des neuf premiers jours qui la suivirent s'étaient montrés négatifs.

Ainsi la période d'état, comme le montrent les chiffres précédents, est celle qui fournit le plus de résultats positifs. Nos examens ont surtout porté sur les derniers jours de cette période, les malades arrivant vers le dix ou douzième jour à l'hôpital, et l'attente du résultat positif de l'hémoculture quand elle est faite de suite, ajoutant quarante-huit heures à ce délai déjà trop long.

Nous comptons la période de défervescence à partir du jour où le plateau de la période d'état s'incline, soit que débute le stade amphibole, soit que commence la descente en lysis jusqu'au jour où la température atteint 37°.

La période de convalescence durait peu à l'hôpital où le mouvement des entrées était considérable, et d'où les néces-

sités militaires faisaient parfois sortir les malades plus rapidement que la prudence ou la prophylaxie ne l'eussent souhaité. Plusieurs de nos malades sont sortis porteurs de germes.

Nos chiffres ne s'appliquent donc qu'à la première partie de la période dite de convalescence.

Un de nos malades, retenu pour d'autres raisons, avait encore des bacilles dans les selles au centième jour.

Nous n'avons, au cours de nos observations, noté qu'une rechute. Il n'y a donc pas lieu de s'y arrêter.

Une perforation ayant entraîné une péritonite d'évolution lente (le malade vécut encore dix-huit jours) n'amena pas d'abord de modifications dans les selles qui restèrent négatives les dix jours suivants.

Les huit derniers jours, au contraire, le réultat des examens fut presque constamment positif.

Nous n'avons pas noté d'influence spéciale des hémorragies sur la présence des bacilles dans les selles.

3° Rapport du nombre des résultats positifs avec la gravité de la maladie.

Nos 43 typhoïdes et paratyphoïdes se répartissent cliniquement en :

17	formes	légères . .	donnant	29,4	p. 100 de	résultats positifs.
19	—	moyennes.	—	57,8	—	—
2	—	graves } = 7	—	86	—	—
5	—	mortelles }				

Les chiffres précédents montrent l'influence considérable de la gravité de la maladie sur la présence des bacilles dans les selles et dans les urines et d'autant plus que, dans les formes mortelles (au nombre de 5), les examens s'échelonnèrent sur une période de temps forcément beaucoup plus courte.

Le facteur gravité est donc un facteur prédominant pour la présence des bacilles dans les selles et dans les urines. Il n'est pas le seul, et parallèlement, mais en partie seulement à lui, nous allons voir en surgir un autre avec la vaccination antityphique.

4° Rapport du nombre des résultats positifs avec l'état de vaccination des malades.

Nous considérons comme complètement vaccinés les malades ayant reçu depuis moins d'un an, soit 3 injections de vaccin T ou 2 injections de vaccin TAB quand il s'agit de fièvre typhoïde, soit 3 injections de vaccin AB ou 2 injections de vaccin TAB lorsqu'il s'agit de fièvre typhoïde. (Injections séparées par les intervalles réglementaires.)

Nos 43 malades se répartissent :

15 non-vaccinés ;
15 incomplètement vaccinés ;
13 complètement vaccinés.

Sur les 15 non-vaccinés, 12, soit 80 p. 100, présentent des bacilles dans les selles ou dans les urines.

Sur les 15 incomplètement vaccinés, il n'y eut plus que 8 résultats positifs, soit 53,3 p. 100 et seulement 4, soit 30,6 p. 100, sur les 13 malades complètement vaccinés.

A voir ces chiffres, la première idée qui vient à l'esprit c'est que ce pourcentage est déterminé par le facteur gravité de la maladie, les vaccinés ayant fait des formes légères et les non-vaccinés des formes graves et mortelles.

Or le hasard des séries a fait qu'il n'en est rien. Examinons les formes cliniques dont se composent les trois groupes de ces malades, vaccinés, incomplètement vaccinés ou non vaccinés.

17 formes légères ont fourni :

0	cas positifs sur	4	chez les vaccinés	soit	0	p. 100	de cas positifs.
1	—	7	incomplètement vaccinés	—	14,3	—	—
3	—	6	non-vaccinés.	—	50	—	—

19 formes moyennes ont fourni :

4	cas positifs sur	8	chez les vaccinés	soit	50	p. 100	de cas positifs.
4	—	5	incomplètement vaccinés	—	80	—	—
6	—	6	non-vaccinés.	—	100	—	—

7 formes graves et mortelles ont fourni :

0	cas positifs sur	1	chez les vaccinés	soit	0	p. 100	de cas positifs.
3	—	3	incomplètement vaccinés	—	100	—	—
3	—	3	non-vaccinés.	—	100	—	—

Il semble donc bien établi, du moins en ce qui concerne les chiffres précédents, que la vaccination dont nous n'avons pas à examiner ici le rôle préventif, a une action empêchante réelle sur la présence des bacilles typhique et paratyphiques dans les selles et dans les urines.

5° Rapport du nombre des cas positifs avec l'espèce microbienne isolée par l'hémoculture.

Nos 43 malades étaient atteints :

18 fois de fièvre typhoïde à bacille typhique;
18 fois de paratyphoïde A;
7 fois de paratyphoïde B.

Sur nos 18 malades à bacille T, nous avons 13 résultats positifs, soit 72,2 p. 100 du nombre total des malades.

Les formes légères ont donné 66,6 p. 100 de cas positifs;
— moyennnes ont donné 75 p. 100 de cas positifs;
— graves et mortelles, 86 p. 100 de cas positifs.

Sur nos 18 malades à bacille paratyphique A, nous avons 6 résultats positifs, soit 33 p. 100 du nombre total des malades; les formes légères et les formes moyennes ont donné également 33 p. 100 de cas positifs; pas de formes graves ni mortelles.

Sur nos 7 malades à bacille paratyphique B, nous avons 3 résultats positifs, soit 43 p. 100 du nombre total des malades; les formes légères et moyennes ont donné également 43 p. 100 de cas positifs; pas de formes graves ni mortelles.

Les fièvres typhoïdes à bacille typhique l'emportent donc de beaucoup sur les fièvres paratyphoïdes A et B comme nombre de cas positifs dans les selles et urines.

Nous retrouvons sur les chiffres de ces pourcentages l'influence des deux facteurs que nous avons signalés précédemment : le facteur « gravité » d'abord — nos typhiques ont fourni à eux seuls les 7 formes graves et mortelles de la statistique — et ne comportent que 3 formes légères sur 17 cas; le facteur « vaccination » ensuite, car ils comptent 8 non-vaccinés contre 4 chez les A et 3 chez les B.

De même, les fièvres paratyphoïdes B, qui viennent ensuite

comme pourcentage de cas positifs, sont cliniquement plus graves que les fièvres paratyphoïdes A et comportent, sur le chiffre total des malades, un nombre plus grand de malades non vaccinés.

Identité des bacilles d'hémoculture et des bacilles des selles.

Au cours de nos recherches, nous avons trouvé deux fois sur 43 malades, dans les selles, et non dans les urines, un bacille différent de celui obtenu par l'hémoculture.

N° 11, *forme moyenne.* — Hémoculture à bacille typhique le 3 juin 1917. Dans les selles du 7, isolement d'un bacille ayant les caractères du paratyphique B ; 6 examens successifs, faits à quarante-huit heures d'intervalle, durant la période de défervescence, furent négatifs, un septième examen permit d'isoler un bacille typhique classique.

N° 19, *forme légère.* — Hémoculture à paratyphique A le 10 mars 1917, un premier examen de selles, le 27, à la période de défervescence, permit d'isoler un bacille paratyphique B, 3 autres examens de selles, faits respectivement six, neuf et douze jours après, restèrent négatifs.

Ces deux bacilles paradoxaux furent identifiés par les réactions biochimiques, l'agglutination par les sérums spécifiques et la saturation des agglutinines. Il s'agissait deux fois du bacille paratyphique B, le fait a donc moins de valeur que s'il s'était agi d'un T ou d'un A.

Dans les 41 autres cas, les bacilles isolés des selles ou des urines furent toujours identiques à ceux révélés par l'hémoculture. Plusieurs colonies prélevées sur la même boîte donnèrent toujours les mêmes résultats.

Modalités de la présence des bacilles dans les selles ou dans les urines.

Lorsqu'un malade est porteur de germes, les boîtes de gélose lactosée tournesolée ensemencées avec ses matières ou ses urines présentent souvent un assez grand nombre de colonies bleues de bacilles typhique ou paratyphiques. Mais ces bacilles ne se trouvent pas régulièrement durant tout le cours de la maladie chez un même malade.

Chez 10 malades, nous avons pu examiner presque quotidiennement les selles durant les trois périodes d'état, de défer-

vescence, de convalescence, une seule fois nous avons trouvé le bacille aux trois périodes. Il s'agissait d'un typhique à forme grave, prolongée et compliquée de dysenterie amibienne. Jusqu'à sa sortie, ce malade eut des selles glaireuses, sanglantes, caractéristiques de la dysenterie. Il ne présente donc pas un milieu intestinal normal.

Chez 13 malades examinés pendant les deux périodes de défervescence et de convalescence, d'une façon suivie, une seule fois nous avons pu retrouver le bacille durant les deux périodes.

Lorsque les résultats sont positifs, ils ne le sont donc pas d'une façon constante. Ils ne le sont pas non plus suivant un mode irrégulier ou indifférent. Nous voulons dire que l'on ne trouve pas des bacilles un jour sur deux ou sur trois, leur présence alternant avec leur absence. Les résultats positifs, comme les résultats négatifs, s'observent par périodes d'une durée de plusieurs jours consécutifs, allant de 2 à 3 jours jusqu'à dix jours, pour les résultats positifs. Il ne s'agit pas là d'une difficulté d'isoler le bacille des selles — nous avons l'impression qu'on le trouve facilement quand il y existe, mais il n'y existe pas toujours. Sa présence dans les selles ou dans les urines semble être réglée suivant un rythme que nous croyons un rythme d'élimination.

Voici différents modes de ce rythme que nous avons représentés en figurant par le signe — les résultats négatifs et par le signe + les résultats positifs.

	état	défervesc.	convalescence
N° 12	— — — — — — —	— — + + + —	— — —

	état	défervesc.	convalescence.
N° 13	+ + + + + + + + + + + — — — — — — — —	— + — + + —	+ + + +

	état
N° 15	+ + — — — — — — — — — — —

	défervescence
N° 20	— — — — — — — — — — +

	état avant perforation	état après perforation
N° 17	· · · · · — —	— — — — — — — — — + + — + + + — +

	défervescence
N° 31	— — + — — — — — — — — + + + —

CONCLUSIONS

Des faits précédemment énoncés et des chiffres recueillis, nous croyons pouvoir tirer les conclusions suivantes :

Les bacilles typhique et paratyphiques se rencontrent surtout dans les selles et dans les urines à la période d'état.

Leur fréquence est beaucoup plus grande dans les formes graves de la maladie, aussi, les trouve-t-on plus souvent dans la fièvre typhoïde que dans les paratyphoïdes.

La résistance du malade (rareté dans les formes légères) et la vaccination paraissent avoir un rôle empêchant remarquable sur leur présence dans les urines et dans les selles.

Cette présence n'est pas constante et se manifeste par périodes irrégulières, mais généralement de plusieurs jours consécutifs de durée, offrant le caractère de périodes de décharge ou de crises.

La présence dans les matières et dans les urines est très généralement simultanée.

Si maintenant, nous éloignant des faits, mais toujours guidés par eux, nous cherchons à les interpréter, nous arrivons à cette conclusion que nous ne présentons d'ailleurs que comme une hypothèse encore non vérifiée.

Rappelons le pourcentage élevé des cas négatifs (51,2 p. 100), la prédominance de ces cas négatifs dans les formes légères ou chez les vaccinés (76,6 p. 100), ne sommes-nous pas fondés à penser ceci :

Au cours des affections typhoïdes la présence des bacilles dans les selles ou dans les urines n'est pas un phénomène constant ni même normal. Dans un grand nombre de cas, il n'y a pas de bacilles dans les excréta parce que le malade, par ses propres forces ou par le secours de la vaccination, arrive à les détruire dans son organisme. Il ne les élimine, encore vivants et reconnaissables, que si la puissance morbide du germe dépasse ou déborde les réactions défensives normales de l'individu. Au cours de ces périodes de défaillance et seulement dans ces périodes, les germes franchissent la barrière intestinale et rénale. C'est pourquoi ces éliminations apparaissent sous forme de décharges ou de crises. S'il en était autrement, si la

lumière intestinale était, pendant la maladie, le siège constant du bacille causal, on décélerait ce bacille dans les matières d'une façon régulière. Nous savons cependant que la bile le contient toujours et sans doute à toutes les périodes. Nous l'y avons trouvé dès le début de la période d'état chez un de nos malades mort de grippe intercurrente. Mais nous pensons que certains germes moins résistants sont détruits à certaines périodes dans le milieu intestinal et peut-être même dans la bile. Autrement nous retrouverions facilement et constamment le bacille vivant que la vésicule verse dans l'intestin.

Ainsi donc, retenu et détruit dans l'organisme (sang, rate, ganglions mésentériques, appareil lymphoïde de l'intestin), le bacille typhique ou paratyphique n'apparaît dans les matières ou dans les urines que lorsque sa virulence ou sa pullulation lui permet de franchir les émonctoires. Dans le cas d'une résistance humaine suffisante, sa présence dans les matières ou les urines serait non la règle, mais l'exception.

La vérification de cette hypothèse ne nous semble pas devoir être possible par la seule étude des caractères culturaux, fermentatifs et agglutinatifs des microbes isolés des selles. Encore conviendrait-il de reprendre l'agglutinabilité comparée de ces germes et de ceux isolés par l'hémoculture : c'est plutôt à l'étude de leur virulence respective qu'il faudrait s'attacher.

IV. — NUMÉRATION DES BACILLES DANS LE SANG CIRCULANT

En numérant les bacilles contenus dans une quantité déterminée de sang prélevé à des typhiques, en répétant ces examens à des jours différents de la maladie, nous avons tenté de savoir :

1° Le nombre des microbes circulant dans le sang au cours des fièvres typhoïdes;

2° Leur persistance ou leur disparition aux différentes époques de la maladie;

3° Les rapports de leur nombre, de leur présence ou de leur absence, avec la gravité de la maladie, ses différents symptômes ou complications, ou avec les vaccinations antérieures du malade;

4° Les rapports avec la nature du germe trouvé ;

5° Les rapports avec le développement dans l'organisme des substances immunisantes et la possibilité pour les germes de se multiplier dans le sang ;

6° La possibilité ou non de la coexistence ou de l'apparition successive des microbes typhiques et paratyphiques dans le cours d'une même fièvre typhoïde ;

7° Enfin nous avons exposé les réflexions que nous ont suggérées les résultats de ce travail surtout au point de vue de l'origine des bacilles circulant dans le sang et de la signification de ce qu'on appelle la septicémie typhoïdique.

Nos recherches ont porté sur douze malades. Huit étaient atteints de fièvre typhoïde à bacille typhique, quatre de paratyphoïde A.

TECHNIQUE

Un ballon contenant 215 cent. cubes de bouillon est porté à l'autoclave à 120° pendant vingt minutes. Le volume du liquide se trouve réduit à 205 cent. cubes. On y ajoute 5 cent. cubes de sang du malade prélevé aseptiquement à la veine. Après avoir agité, on répartit 1 cent. cube du mélange dans 10 tubes contenant 6 cent. cubes de bile. Le reste — soit 200 cent. cubes — est réparti dans 50 tubes de bile à raison de 4 cent. cubes par tube. Les tubes qui ont reçu 1 cent. cube du mélange contiennent donc : 1/40 de centimètre cube de sang, ceux qui ont reçu 4 cent. cubes : 1/10.

Les tubes sont portés à l'étuve. Quand ils se troublent, on les sème sur gélose et on identifie le bacille par les moyens ordinaires. Nous avons fait usage à cette occasion, comme dans notre pratique courante, de gélose glucosée profonde, de gélose au plomb et de lait tournesolé. Un tube d'eau peptonée, ensemencée simultanément, sert à l'agglutination.

Les chiffres que nous obtenons sont des chiffres approximatifs et représentent seulement des chiffres minima. Nous nous reconnaissons seulement le droit de dire, quand un de nos tubes a poussé, qu'il contenait *au moins* un bacille. D'où le calcul très simple : X tubes ont poussé il y avait donc au moins X bacilles dans 5 cent. cubes de sang. Les 10 tubes,

renfermant chacun 1/40 de centimètre cube de sang, étaient là pour nous servir de contrôle et nous fournir une approximation plus exacte dans le cas où tous les tubes contenant 1/10 de centimètre cube de sang auraient poussé.

Il resterait à prouver expérimentalement qu'un seul bacille par tube suffit à donner au bout d'un certain temps une culture appréciable. Certains de nos tubes ne décèlent un trouble appréciable et ne donnent par repiquage un résultat positif qu'à partir du sixième et huitième jour, alors que la grosse majorité des tubes positifs est déjà trouble après quarante-huit heures. Sont-ce seulement les tubes à poussée tardive qui ne contenaient qu'un microbe? C'est assez vraisemblable. Une culture se montre d'autant plus précoce et plus riche que l'ensemencement a été fait, toutes choses égales d'ailleurs, avec un plus grand nombre de germes (1).

Nous ne prétendons nullement à une rigueur mathématique, nous essayons de fournir seulement des résultats susceptibles de comparaisons et d'une commune mesure : l'expression « un bacille » peut signifier un amas microbien.

Tous nos tubes présumés stériles étaient conservés quinze jours avant d'être jetés. Tous les tubes restés non troubles à cette époque, et repiqués une dernière fois sur gélose, se sont montrés stériles. La question d'une multiplication des germes du sang dans le bouillon avant sa répartition dans les tubes de bile mérite d'être envisagée. Le sang était mélangé au bouillon, au lit d'un malade, dans un pavillon qui n'était distant du laboratoire que de quelques mètres. Le ballon de bouillon était constamment agité aussitôt le sang reçu, pour assurer une répartition aussi égale que possible des germes.

Deux aides nous assistaient dans la manipulation. Les 10 tubes qui recevaient 1 cent. cube du mélange, soit 1/40 de

(1) En injectant une culture de pneumocoques dans les veines d'animaux ayant déjà reçu du sérum antipneumococcique, M. Govaerts a vu se produire *in vivo* l'agglutination du microbe. Peut-être les agglutinines du sang de nos malades déterminaient-elles un phénomène semblable, Dans ce cas les tubes qui poussaient précocement pouvaient contenir plusieurs microbes agglutinés. L'hypothèse vaut cependant d'être discutée. D'après les travaux de M. Govaerts, cette agglutination était accompagnée de la disparition des microbes du sang circulant, de leur localisation dans les capillaires et de leur phagocytose.

Govaerts, Quelques données expérimentales sur la signification des septicémies. *Presse médicale*, 25 novembre 1918.

centimètre cube de sang, étaient remplis les premiers. Les 50 autres tubes venaient ensuite, flambés et présentés à l'extrémité de la pipette, alternativement par chacun de nos aides. Depuis le moment où le sang était mélangé au bouillon, jusqu'à l'ensemencement des derniers tubes, il s'écoulait un intervalle de temps qui a varié entre sept et huit minutes.

1° Nombre des microbes circulant dans le sang au cours des fièvres typhoïdes.

Par centimètre cube de sang pris à la veine du pli du coude (toujours entre seize et dix-sept heures chez des malades soumis à la diète liquide) le nombre a varié de 0,2 (au moins un microbe pour 5 cent. cubes) à 10 (au moins 50 microbes pour 5 cent. cubes). Voici d'ailleurs les chiffres exacts : 2 — 2,4 — 3,6 — 0,2 — 10 — 0,4 — 2,4 — 1,8 — 3,2 — 6,6 — 0,6 — 6.

Il s'agit comme on le voit de chiffres relativement peu élevés, qui ne concordent pas avec l'idée que nous nous faisons d'une septicémie, au sens clinique du mot. *Ils sont infiniment faibles* par rapport aux septicémies expérimentales des animaux de laboratoire. Ou bien le nombre des germes circulants est réellement très faible (1) (quelques rares unités par centimètre cube ou moins), ou bien ils ne sont charriés qu'en rares amas.

2° Persistance ou disparition des microbes aux différentes époques de la maladie.

Le matériel considérable de milieux et de verrerie nécessité par une numération quotidienne des microbes dans le sang d'un malade ne nous a permis de faire cette étude complète que dans deux des douze cas étudiés. Nous rapporterons ces deux cas avec quelques détails.

Premier cas : Billiotte (n° 11 du tableau général). Malade non vacciné, hémo culture positive, bacille typhique. La numération est faite le sixième jour. Le septième jour, hémorragie intestinale abondante, avec syndrome atténué de perforation intestinale, arrêt des gaz, vomissements. Cependant le pouls se

(1) Paisseau et Hutinel ont numéré de 500 à 2.000 hématozoaires par *millimètre cube* de sang chez des malades atteints de paludisme aigu.

maintient, la température descend régulièrement. Le quinzième jour les vomissements cessent et le malade émet quelques gaz, il va à la selle le seizième jour. Le dix-septième jour, grosse débâcle diarrhéique, faiblesse, 36°3, et mort le dix-huitième jour, 36°8.

A l'autopsie, péritonite par perforation de l'intestin grêle à quelques centimètres de la valcule iléo-cæcale. La péritonite est localisée dans le petit bassin, ce qui explique la longue durée de la survie. L'intestin grêle dans sa dernière portion présente de nombreuses et profondes ulcérations de plaques de Peyer.

Nombre de microbes selon l'âge de la maladie (par centimètre cube) :

6e jour. . . .	0,6
7e —	0,02 (jour de la perforation).
8e —	0,06
9e-10e jours. . .	Le sang reste stérile.
11e jour.	0,02
12e —	Le sang reste stérile.
13e —	0,02
15e et 17e jours.	Le sang reste stérile.
Mort le 18e jour.	

Dix minutes après la mort, ponction du cœur. On retire d'abord 10 cent. cubes de liquide péricardique clair que l'on sème sur bile, ce liquide ne contient pas de microbes. L'aiguille enfoncée plus profondément permet de retirer ensuite 8 cent. cubes de sang que l'on sème dans un tube de bile. Ce tube ne donne pas de culture.

Deuxième cas : Carré (n° 12 du tableau général). Fièvre typhoïde en 1914 (?) Une vaccination en 1916. Hémoculture positive para A. Forme de gravité moyenne, pyrexie ayant duré vingt-sept jours, pas de complications.

Numération des microbes faite (par centimètre cube) :

8e jour.	6
9e —	2,6
10e —	1
11e —	0,4
12e-14e et 15e jours	Pas de microbes.
16e jour	0,2
18e —	0,2
20e-22e-23e-25e et 27e jours.	Pas de microbes.

Enfin, une seconde hémoculture pratiquée sur le malade Bisson (n° 9 du tableau général) au douzième jour d'une fièvre typhoïde grave d'emblée hyperthermique, alors que le malade était dans le coma (il mourut au quinzième jour), fut négative; la numération faite le sixième jour avait donné : 3,2 par centimètre cube.

Ainsi nous voyons les microbes persister dans le sang, circulant dans le premier cas jusqu'au treizième jour (le malade mourut le dix-huitième en hypothermie), dans le second cas jusqu'au dix-huitième. Dans le troisième cas, ils

n'existaient plus le douzième jour: le malade resta cependant en hyperthermie jusqu'au jour de sa mort qui fut le quinzième. Il est d'ailleurs prouvé depuis longtemps que l'hémoculture a d'autant plus de chance d'être positive qu'elle est faite plus précocement. Nous ajouterons qu'il est probable que les nombres de microbes les plus élevés doivent se rencontrer dans la première hémoculture. Il en a été ainsi dans les deux numérations en série que nous avons pu faire.

Remarquons aussi la décroissance rapide — surtout dans notre second cas (Carré) — du nombre des microbes circulant dans le sang. De 6 le premier jour, il tombe à 2,6 le deuxième, 1 le troisième et 0,4 le quatrième.

Retenons dès maintenant ce fait que dans nos deux séries de numération nous avons vu les microbes disparaître du sang pendant deux ou trois jours pour les voir réapparaître plus tard.

3° Rapports du nombre des microbes, de leur présence ou de leur absence avec la gravité de la maladie, ses différents symptômes ou complications, ou avec les vaccinations antérieures du malade.

a) Rapports avec la gravité de la maladie.

Les douze cas étudiés se répartissent en *deux formes mortelles* (nos 9 et 11 du tableau général), toutes deux à bacille d'Eberth, *trois formes graves*, *quatre moyennes*, *trois légères*.

Deux formes mortelles.

Dans la première la température présente un plateau entre 39°-40°. D'emblée phénomènes ataxo-adynamiques avec hémorragie intestinale grave au treizième jour et mort au quinzième jour avec un état comateux apparu trois jours avant la mort. La numération, faite le sixième jour, donne 3,2 microbes par centimètre cube. Une seconde hémoculture faite le douzième jour, lorsque le malade était déjà dans le coma, resta stérile.

Dans la seconde, forme grave d'emblée avec température aux environs de 40°, une perforation survient le septième jour, avec péritonite localisée. Malgré l'abaissement régulier de la température, le malade mourut le dix-huitième jour avec des phénomènes cachectiques. Une première numération pratiquée le sixième jour donne 0,6 microbe par cent. cube de sang. Les jours suivants on trouve 0,2 (jour de la perforation) — 0,6 — 0 — 0 — 0,2 —

0 — 0,2. Au quinzième et au dix-septième jour, veille de la mort, les hémocultures restèrent stériles, reste stérile aussi le sang du cœur recueilli dix minutes après la mort.

Trois formes graves, nos 3, 4 et 5 du tableau général, toutes trois à bacille d'Eberth.

Le no 3 présenta une pyrexie de vingt-cinq jours et, après une apyrexie de onze jours, fit une rechute qui dura douze jours. La numération faite au neuvième jour donne 3,6 microbes par centimètre cube de sang.

Le no 4 fit une fièvre typhoïde avec reprise. La pyrexie dura au total trente-cinq jours. La numération faite le treizième jour donne 0,2 par centimètre cube de sang.

Le no 5 fit une forme grave, sans complication, avec une pyrexie de trente-cinq jours et un amaigrissement considérable. La numération faite le sixième jour donne 10 microbes par centimètre cube de sang.

Quatre formes moyennes, nos 1, 7, 10 et 12 du tableau général, sans complications.

Le no 1, Para A, un mois de pyrexie y compris une reprise. Deux microbes par centimètre cube de sang. Numération au sixième jour.

Le no 7, bacille typhique, vingt jours de pyrexie. Numération faite le dixième jour, deux microbes par centimètre cube de sang.

Le no 10, Para A, vingt-cinq jours de pyrexie. Numération faite le neuvième jour, 6,6 microbes par centimètre cube de sang.

Le no 12, Para A, vingt-sept jours de pyrexie. Numération faite le huitième jour, six microbes par centimètre cube de sang.

Trois formes légères, nos 2, 6 et 8 du tableau général.

Le no 2, bacille typhique, quinze jours de pyrexie. Numération faite le sixième jour; 2,4 microbes par centimètre cube de sang.

Le no 6, Para A, quatorze jours de pyrexie. Numération faite le huitième jour; 0,4 microbe par centimètre cube de sang.

Le no 8, bacille typhique, seize jours de pyrexie. Numération faite le huitième jour, 1,8 microbe par centimètre cube de sang.

Des chiffres précédents nous pouvons tirer les réflexions suivantes :

Le chiffre des microbes par centimètre cube de sang ne paraît pas directement en rapport avec la gravité de la maladie à égalité de précocité de l'hémoculture.

Les deux formes mortelles hémoculturées le sixième jour ont donné 3,2 et 0,6 microbes par centimètre cube de sang. Nous rencontrons des chiffres supérieurs au plus élevé des deux dans deux formes graves 3,6 — 10 et dans deux formes moyennes 6,6 et 6, hémoculturées respectivement les neuvième, sixième et huitième jours.

Si nous faisons une moyenne du nombre des microbes trouvés par centimètre cube de sang dans chacune des quatre

formes nous trouvons, indépendamment de la date de l'hémoculture, les chiffres suivants :

Formes mortelles	1,7
— graves	4,6
— moyennes. . . .	4,15
— légères	1,5

Nous avons ainsi deux groupes de deux nombres qui se rapprochent très sensiblement. Le premier groupe 1,9 et 1,5 est commun aux formes mortelles et aux formes légères. Le second 4,6 et 4,15 est commun aux formes graves et aux formes moyennes.

b) Rapports du nombre des microbes avec la date de l'hémoculture.

Chez un même malade, le nombre des microbes trouvés par centimètre cube de sang est d'autant plus élevé que l'hémoculture se rapproche davantage du début de la maladie. Nos deux numérations en série et le cas n° 9 semblent le prouver.

Si nous examinons notre tableau général nous voyons que les chiffres des microbes sont, en général, d'autant plus élevés que la date de l'hémoculture a été plus précoce.

Cinq hémocultures faites le sixième jour de la maladie ont donné respectivement : 2 — 2,4 — 10 — 3,2 — 0,6, et en moyenne 3,6.

Trois hémocultures faites le huitième jour ont donné respectivement 0,4 — 1,8 — 6, et en moyenne 2,7.

Deux hémocultures faites le neuvième jour ont donné respectivement 3,6 et 3,2, et en moyenne 3,4.

Une hémoculture faite le dixième jour a donné 2,4.

Une hémoculture faite le treizième jour a donné 0,2.

Là encore on peut se demander si les agglutinines d'intensité croissante ne provoquent pas, sinon une diminution réelle du nombre des germes circulants, du moins une agglutination *in vivo*, diminuant les chances « d'éparpillement » des germes dans nos tubes.

c) Rapports avec la température.

On a toujours pensé qu'une hémoculture avait d'autant plus de chances d'être positive qu'elle était faite au moment

où la température du malade était la plus élevée, d'où la conclusion pratique de recueillir le sang à l'heure de la journée où la température est, toutes choses égales, la plus haute, soit entre quinze et dix-sept heures. Le nombre des microbes en circulation dans le sang varie sans doute avec les variations physiologiques de la température dans une même journée, comme il varie avec les phénomènes digestifs; c'est là une recherche que nous n'avons point faite; nous n'avons pas fait de numération le matin et le soir d'un même jour chez le même malade.

Voici, en regard des températures, le nombre des microbes que nous avons trouvés :

N° 3	40°3	3,6	microbes.
10	40°2	2,6	—
4	40°2	0,2	—
1	40°	2	—
8	39°9	1,8	—
2	39°9	2,4	—
5	39°8	10	—
11	39°8	0,6	—
12	39°6	6	—
7	39°2	2,4	—
6	39°	0,4	—

Comme on le voit, aucune règle ne semble se dégager de ces chiffres. Le facteur précocité de l'hémoculture nous paraît plus important que le facteur température pris isolément. L'abaissement thérapeutique de la température (aspirine), réalisé plusieurs jours de suite dans le cas n° 12 de notre tableau général, n'a eu aucune influence sur la présence des microbes dans le sang circulant. Nous avons trouvé 2,5 et 1 microbe au neuvième et au dixième jour, alors que la température centrale du malade était, à l'heure où nous faisions notre prise de sang, de 37°5 et 37°1.

En règle générale, et nous parlons aussi d'après notre expérience personnelle (7.500 hémocultures), on a peu de chances d'avoir un résultat positif alors que le malade a une température inférieure à 38°5. Nous en avons obtenu exceptionnellement, cependant, avec des températures de 38°, et une fois avec une température de 37°8 (nous parlons ici, bien entendu, de températures qui n'ont point été abaissées par des moyens thérapeutiques chimiques).

d) Rapports avec les complications.

Bisson (cas 9 du tableau général), bacille typhique, avait au sixième jour 3,2 microbes par centimètre cube de sang. Au douzième jour de maladie, se déclare une hémorragie intestinale considérable qui ne fit point tomber sa température restée en plateau entre 39° et 40°. Une hémoculture faite ce jour même resta stérile,

Billiotte (cas 11 du tableau général), bacille typhique présentant au sixième jour 0,6 microbe par centimètre cube de sang, Le septième jour, hémorragie et perforation intestinale; le nombre des microbes est de 0,02, pour remonter à 0,6 le jour suivant et tomber ensuite à 0.

Il ne semble donc pas, d'après ces deux cas, que l'apparition d'une hémorragie ou d'une perforation intestinale ait une influence quelconque sur le nombre des microbes circulant dans le sang.

e) Rapports avec les vaccinations antérieures.

Voici quel était l'état des vaccinations de nos douze malades : trois n'avaient jamais été vaccinés et présentaient respectivement les chiffres de 3,6 — 0,2 — et 0,6, soit en moyenne 1,5 microbe par centimètre cube de sang et par sujet. Cinq avaient reçu une vaccination incomplète ou n'avaient pas été revaccinés depuis un an.

		Microbes par c.c.
N° 2	Typh. (février 1918) — 4 T (1915) — 1 TAB (1917)	2,4
6	Para A (mai 1918) — 5 T (1916) — 1 TAB (févr. 1918)	0,4
7	Typh. (juin 1918) — 2 TAB (mai 1917)	2,4
9	Typh. (juin 1918) — 4 T (1914)	3,2
12	Para A (1918) — F. typh. (1914) (?) 1 vaccination en 1916	6

soit en moyenne, pour ces six malades, 2,7.

Trois malades enfin avaient reçu une vaccination complète dans l'année, ou avaient été revaccinés depuis un an.

		Microbes par c.c.
N° 1	Para A (novembre 1917) — 2 TAB (février 1917)	2
5	Typh. (mai 1918) — 2 TAB (mai 1917)	6,0
8	Typh. (juin 1918) — Armée américaine, vaccin complet, en 1918	1,8
10	Para A (juillet 1918) — 4 T (1915) — 3 TAB (1916) — 1 TAB (1917)	6,6

soit en moyenne, pour ces trois malades, 6,1.

Les résultats semblent ici particulièrement paradoxaux. D'après des chiffres, il faudrait conclure qu'un typhique a d'autant plus de microbes circulant dans le sang que sa vaccination est plus parfaite. Nous avons déjà été frappés d'un pareil illogisme en constatant que le nombre des microbes était plus élevé dans les formes moyennes que dans les formes mortelles.

Le nombre des cas étudiés est vraisemblablement trop minime pour que nous ayons le droit d'en tirer une conclusion.

4° Rapports avec la nature du germe.

Nos douze cas se répartissent en 4 Para A donnant respectivement par centimètre cube de sang : 2 — 0,4 — 6,6 — et 6, soit en moyenne 3,70 microbes.

Et en 8 T, donnant respectivement : 2,4 — 3,6 — 0,2 — 10 — 2,4 — 1,8 — 3,2 et 0,6, soit en moyenne 3,02 microbes.

Comme on le voit, les chiffres sont à peu près égaux. Durant la période de temps où nous poursuivions ces recherches, nous n'avons pas eu l'occasion de numérer les microbes circulant dans le sang de malades atteints de paratyphoïdes B.

5° Rapports avec le développement dans l'organisme de substances immunisantes.

A la période du début de la maladie, le sang contient des microbes, et peu ou point d'agglutinines.

Quand celles-ci ont atteint leur taux maximum, les microbes ont disparu du sang. Y a-t-il, entre ces deux phénomènes, relations de cause à effet? Nous croyons que le taux élevé du pouvoir agglutinant des humeurs n'empêche pas la circulation des microbes dans le sang.

Nous attirerons cependant l'attention sur le fait suivant :

Nous avons agglutiné avec le sérum du sujet non seulement les microbes typhiques, paratyphique A et paratyphique B (souches Pasteur), mais encore son propre microbe. Nous avons pris soin, pour chaque agglutination de ce microbe, de recourir à la culture mère, sur gélose, obtenue de la première hémoculture, afin de ne pas augmenter,

par des passages successifs, l'agglutinabilité de ce microbe. Nos agglutinations étaient faites, en partant d'eau peptonée ensemencée vingt-quatre heures avant, diluée d'eau physiologique, additionnée en tubes stériles, du sérum du malade. Lecture était faite à la loupe, après contact de vingt-quatre heures à la température du laboratoire, après comparaison avec des tubes témoins. Nous précisons ces détails de technique, car rien n'est plus difficile, à notre avis, à bien réussir qu'une agglutination, et peu de phénomènes sont, entre eux, plus difficilement comparables.

Dans notre premier cas (n° 11 du tableau général), forme grave d'emblée, perforation intestinale, mort au dix-huitième jour, nous voyons que la courbe d'agglutination du microbe du sujet, égale le premier et le deuxième jour à celle de la souche correspondante du laboratoire, lui devient, les jours suivants, nettement inférieure. Le dix-huitième jour, jour de la mort, le sérum du malade agglutine son propre microbe à 1/500, tandis que le taux d'agglutination du bacille typhique du laboratoire s'élève à 1/1.000.

Dans le second cas (cas n° 12 du tableau général), forme de gravité moyenne de vingt-sept jours évoluant sans complication, c'est le phénomène inverse qui se produit. Dès les premiers jours, le sérum du malade agglutine son propre microbe à 1/600 et la souche du laboratoire seulement à 1/100.

Les deux courbes des taux d'agglutination montent non seulement sans se rejoindre, mais en s'écartant, et, le jour de la sortie du malade, son sérum agglutinait son propre microbe à 1/8.000, et la souche du laboratoire à 1/5.600.

Peut-être serait-il intéressant de tirer de ces agglutinations comparées un élément de pronostic.

Nous avons dit plus haut, que le petit nombre des microbes circulant dans le sang au cours de fièvre typhoïde nous éloignait de considérer celle-ci comme une véritable septicémie (au sens septicémie expérimentale de laboratoire). En d'autres termes, *nous ne pensons pas qu'il y ait dans le sang circulant multiplication des microbes.*

En est-il de même dans le sang conservé *in vitro*, dans des conditions le rapprochant, autant que possible, de son état normal? Voici, à ce sujet, les expériences que nous avons imaginées.

Au lieu de prendre seulement dans la veine du malade les 5 cent. cubes

de sang nécessaires à la numération des microbes, nous en prenions 10 cent. cubes. Les cinq premiers centimètres cubes étaient répartis dans le bouillon pour servir à la numération. Les autres cinq centimètres cubes étaient recueillis dans un tube contenant quatre gouttes d'une solution concentrée dans l'eau distillée de citrate de soude. Ce sang, en présence de citrate de soude (5 centigrammes environ), restait indéfiniment incoagulable. Le tube était porté à l'étuve et y restait quarante-huit ou quatre-vingt-seize heures, Au bout de ce temps, les 5 cent. cubes étaient mélangés à 200 grammes de bouillon et le mélange était réparti en tubes de bile pour procéder à une numération des microbes ainsi que nous l'avons exposé dans la technique qui figure au début de ce travail.

Dans le premier cas (n° 11 du tableau général, forme mortelle à bacille typhique), voici les résultats obtenus :

	1	2	3	4	5	6	7	8
Numération des microbes du sang circulant	0,6	0,2	0,6	0	0	0,2	0	0,2
Numération des microbes du sang citraté, après 48 ou 96 h. d'étuve.	0,2	0,2	1	0	0	0,2	0	0

Les chiffres sont à peu de chose près les mêmes. Les minimes différences qu'ils offrent s'expliquent par le petit nombre de microbes sur lesquels nous opérions.

Il n'y a donc pas de multiplication du microbe dans le sang citraté, malgré son séjour à l'étuve de quarante-huit heures à quatre-vingt-seize heures.

Dans le deuxième cas (n° 12 du tableau général, forme moyenne à Para A), les chiffres sont complètement différents Alors que le nombre des microbes trouvés dans le sang circulant est relativement peu élevé : 6 — 2,6 — 1 — 0,4, il s'est produit au contraire une véritable multiplication dans les tubes contenant le sang citraté, et conservés à l'étuve. Des amas microbiens, sous forme de gouttelettes grisâtres, se sont développés sur les globules rouge sédimentés au fond des tubes. Nous nous trouvons en présence de culture dans le sang. Il devient impossible de numérer les microbes.

Nous avions, en vue de contrôle, ensemencé des tubes contenant du sang citraté, provenant soit de typhique avec pouvoir agglutinant élevé, soit de malades quelconques, non vaccinés avec des bacilles typhiques. *Dans tous ces tubes, les microbes se sont développés, dès la sixième heure, avec la plus grande abondance.*

6° Possibilité ou non de la coexistence ou de l'apparition successive des microbes typhiques ou paratyphiques dans le cours d'une même fièvre typhoïde.

Nous avons vérifié par les réactions biochimiques habituelles, et par l'agglutination chacun des microbes isolés au cours des hémocultures et des numérations successives. Dans les douze cas que nous présentons ici, nous avons constaté une unité microbienne absolue (1).

7° Origine des germes.

Nous avons vu que le sang des typhiques contient des microbes circulant pendant un assez court espace de temps, quinze à dix-huit jours au plus ; que pendant ce court espace il n'en contient pas d'une façon constante et qu'il n'en contient qu'en petite quantité. Deux ou trois jours d'hémoculture stérile peuvent s'intercaler entre deux hémocultures fertiles. Où donc est le microbe quand il ne peut être trouvé dans le sang?

A l'autopsie des typhiques, il est trois organes où l'on trouve constamment ce microbe : la rate, les ganglions mésentériques et, si tardive que soit la mort, la vésicule biliaire.

La rate ne nous semble pas devoir être considérée comme pouvant servir de réservoir où la circulation viendrait puiser de temps à autre des bacilles. Le peu que nous savons de la physiologie de cet organe nous le montre comme un lieu de rénovation sanguine et de destruction, aussi bien tissulaire que microbienne.

Les ganglions mésentériques sont aussi un lieu de destruction.

Si tardive que soit la mort de l'individu, on retrouve, avons-nous dit, le microbe à l'état de pureté et en assez grande abondance dans la vésicule biliaire. Nous savons assez quel excellent milieu la bile constitue pour les espèces microbiennes qui nous occupent.

(1) Nous avons relaté ailleurs le résultat de nos recherches sur la même question ; portant sur un nombre considérable d'hémocultures, elles ne nous ont jamais montré l'association de plusieurs germes typhiques différents chez un même malade. Dans un seul cas, qui paraît être une rare exception, nous avons décelé au cours d'une rechute un germe différent de celui de la première atteinte. Pierre Hébert et Marcel Bloch, Bacille paratyphique B et bacille d'Eberth, trouvés successivement dans le sang d'un typhoïdique. *Soc. méd. des hôp. de Paris*, 23 juillet 1917, p. 937.

La vésicule biliaire peut donc être considérée comme un réservoir du bacille typhique ou paratyphique, mais à condition de donner à ce mot le sens spécial de réservoir de sortie. Il s'agit là d'une excrétion bacillaire. Reste le réservoir intestinal.

L'ulcération des plaques de Peyer est un phénomène tardif. Pendant une grande partie de la période dite « septicémie » il y a seulement, sous une muqueuse intacte, hyperplasie lymphoïde, à type réactionnel et défensif.

L'ulcération par nécrose et fonte secondaire, semble bien un processus d'évacuation, une porte ouverte à l'excrétion et non une porte ouverte à l'infection (combien sont rares, au cours de la fièvre typhoïde, les métastases microbiennes banales provenant de l'intestin ulcéré).

Evidemment, les matières d'un typhique renferment le microbe au cours de l'infection. Le renferment-elles en grande quantité? Le renferment-elles constamment, nous ne le croyons pas (voir chapitre III).

Le bacille typhique est relativement rare dans les urines et les selles des typhiques. Il apparaît, non d'une façon constante, mais à des périodes espacées irrégulièrement, exactement comme si sa présence y correspondait à des décharges d'excrétion.

Ainsi donc pour les bacilles typhiques le sang n'est qu'une voie de passage, l'appareil splénique et lymphoïde un lieu de destruction, les appareils urinaires, biliaires, intestinaux des lieux d'excrétion. Et cependant le germe végète et se multiplie constamment quelque part dans l'économie. Si bien que le lendemain du jour où nous ne le trouvons plus dans le sang circulant, nous y constatons de nouveau sa présence. Si bien, qu'après la guérison apparente, nous le retrouvons les premiers jours d'une rechute, et qu'après la guérison définitive du grand syndrome morbide, nous le voyons apparaître dans une périostite par exemple.

Dans l'état actuel de nos connaissances, nous soupçonnons l'existence d'un « gîte microbien », sans pouvoir préciser son emplacement ni sa nature.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

36e ANNÉE MARS 1922 N° 3

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LES LÉSIONS DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL DANS LE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE LE RÔLE DE LA NÉVRITE ASCENDANTE DANS LE MÉCANISME DE CES LÉSIONS

par G. MARINESCO
Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest.

Par la grande fréquence et la multiplicité des troubles nerveux, le typhus exanthématique occupe une place à part dans le cadre si vaste des maladies infectieuses; mais, si la gravité de l'état général pendant la période aiguë n'en permet pas une analyse minutieuse, il n'en est pas moins vrai, d'autre part, que ce sont ces troubles nerveux qui constituent les traits essentiels de la maladie, le virus exanthématique étant neurotrope [Devaux] (1). D'ailleurs, ce qui témoigne que le système nerveux, dès le commencement de la maladie, est touché, c'est que les diverses complications nerveuses qui paraissent pendant la convalescence étaient déjà esquissées dès les premiers jours de la maladie. Cependant il y a un point qui doit être relevé et qui témoigne de la participation du système nerveux,

(1) A. Devaux, Les complications nerveuses du typhus exanthématique. *Journal médical français*, février 1921. — Le cytodiagnostic céphalo-rachidien au cours du typhus exanthématique. *Académie de Médecine de Paris*, 1918.

c'est la réaction méningée étudiée par Slatineanu et Galesescu, qui fait son apparition au décours de la première semaine [Devaux, Danielopolu (1), Cantacuzène (2)] avant l'éruption [Paulian (3), Tzupa (4) et Heuyer (5)] ou même dès le second jour de la maladie [Heilig]. En ce qui concerne la fréquence de la pléocytose rachidienne, Tzupa l'a constatée dans 95 p. 100 des cas. Toutes les régions du système nerveux central peuvent être touchées, aussi nous avons les aspects les plus variés. La participation du cerveau se traduit par des troubles délirants, par l'excitation maniaque, la carphologie, la catatonie. Il y a, en outre, des troubles méningés tels que la raideur de la nuque, le signe de Kernig, ventre en bateau, photophobie, constipation, et parmi les nerfs craniens la névrite optique et acoustique témoigne qu'ils sont touchés. Le typhus ambulant des enfants n'est pas exempté de troubles nerveux [Tzupa et Weill]. Les différentes manifestations nerveuses de la terrible maladie qui a sévi en Roumanie ont été étudiées par Bacaloglu, Devaux, Parhon, Paulian, etc.

Lorsque les symptômes bruyants de la période fébrile se sont dissipés, on peut constater des troubles organiques ou des troubles fonctionnels. Il est fort probable que, parmi les troubles dits fonctionnels, un bon nombre relève des lésions organiques, mais peu accusées du système nerveux central et périphérique.

La méthode anatomo-clinique permet actuellement d'expliquer la pathogénie des troubles nerveux constatés dans le typhus exanthématique. Elle montre qu'il y a une concordance parfaite entre les symptômes, le siège et la nature des

(1) D. Danielopolu. *Le typhus exanthématique*, Bucarest, 1919 (1 vol. en français).

(2) J. Cantacuzène. L'épidémie de typhus exanthématique en Roumanie pendant la dernière guerre. *Bull. de la Soc. de Path. exotique*, 1920, **13**, p. 269. Le typhus exanthématique. *Journ. méd. français*, février 1921. Le liquide céphalo-rachidien dans le typhus exanthématique. *Soc. de Biologie*, mai 1919.

(3) Paulian. *Les complications nerveuses du typhus exanthématique*, Bucarest, 1919 (brochure en français).

(4) Devaux, Paulian, Tzupa, Formule cytologique du liquide céphalo-rachidien au cours du typhus exanthématique. *C. R. de la Soc. méd. franco-roumaine*, mai 1917.

(5) Heuyer, Note sur la cytologie du liquide céphalo-rachidien dans le typhus exanthématique. *Soc. de Biologie*, juin 1919.

lésions, de sorte qu'il faut se demander si les troubles dits fonctionnels ne sont pas sous la dépendance des lésions organiques du système nerveux central et périphérique.

Nous avons eu l'occasion d'étudier, grâce à l'obligeance du docteur T. Mironesco, le système nerveux central et périphérique dans quatre cas graves de typhus exanthématique. Cette étude va nous permettre d'aborder certains problèmes qui sont restés dans l'ombre jusqu'ici, à savoir : le rapport des lésions des nerfs périphériques et craniens, signalées la première fois par Licen (1), avec les altérations du système nerveux central et la propagation du virus de la périphérie vers le centre, non seulement par l'intermédiaire de la voie sanguine, mais aussi par la voie des nerfs périphériques.

Notre étude étant d'ordre histologique, nous négligerons à dessein les observations cliniques, d'autant plus que nous n'avons pas eu l'occasion d'observer nous-même les malades. Disons cependant que l'observation première, qui constitue le sujet principal de notre étude, concerne un malade de quarante ans, entré dans le service de M. Mironesco le 29 septembre 1920 et mort le 1er janvier 1921. Le malade a été amené dans un état grave, avec perte de la connaissance, délire continu, la figure congestionnée et dyspnée très accusée. La température variait entre 39° et 39°5. Il avait en outre la rétention de l'urine. La ponction lombaire a fait voir un liquide en hypertension et légèrement rosé.

Nous avons pratiqué l'examen de la plupart des nerfs craniens et périphériques, sensitifs, moteurs et mixtes et nous avons trouvé dans les uns comme dans les autres des lésions de névrite interstitielle très caractéristiques et siégeant sur leur trajet. Nous avons employé diverses méthodes : de Nissl, de Bielschowsky, la coloration au Sudan.

Elles consistent essentiellement dans la prolifération et l'infiltration des enveloppes des nerfs périphériques des gaines des faisceaux nerveux du tissu conjonctif inter- et intrafasciculaire. Puis à ces lésions s'ajoute encore la formation de nodules en rapport avec le trajet des petits vaisseaux, spécialement des

(1) Licen, Sulle alterazioni del sistema nervoso nel tifo esantematico. *Reiv. di. Patol. nerv. e mentale*, 1920, p. 1.

veinules et des capillaires. Il s'y forme aussi des petits foyers hémorragiques situés tout près ou à une certaine distance des nodules inflammatoires.

La figure 1, qui représente une coupe transversale du nerf médian du bras, nous offre l'aspect général des lésions qui se propagent de la surface de la capsule du nerf par l'intermé-

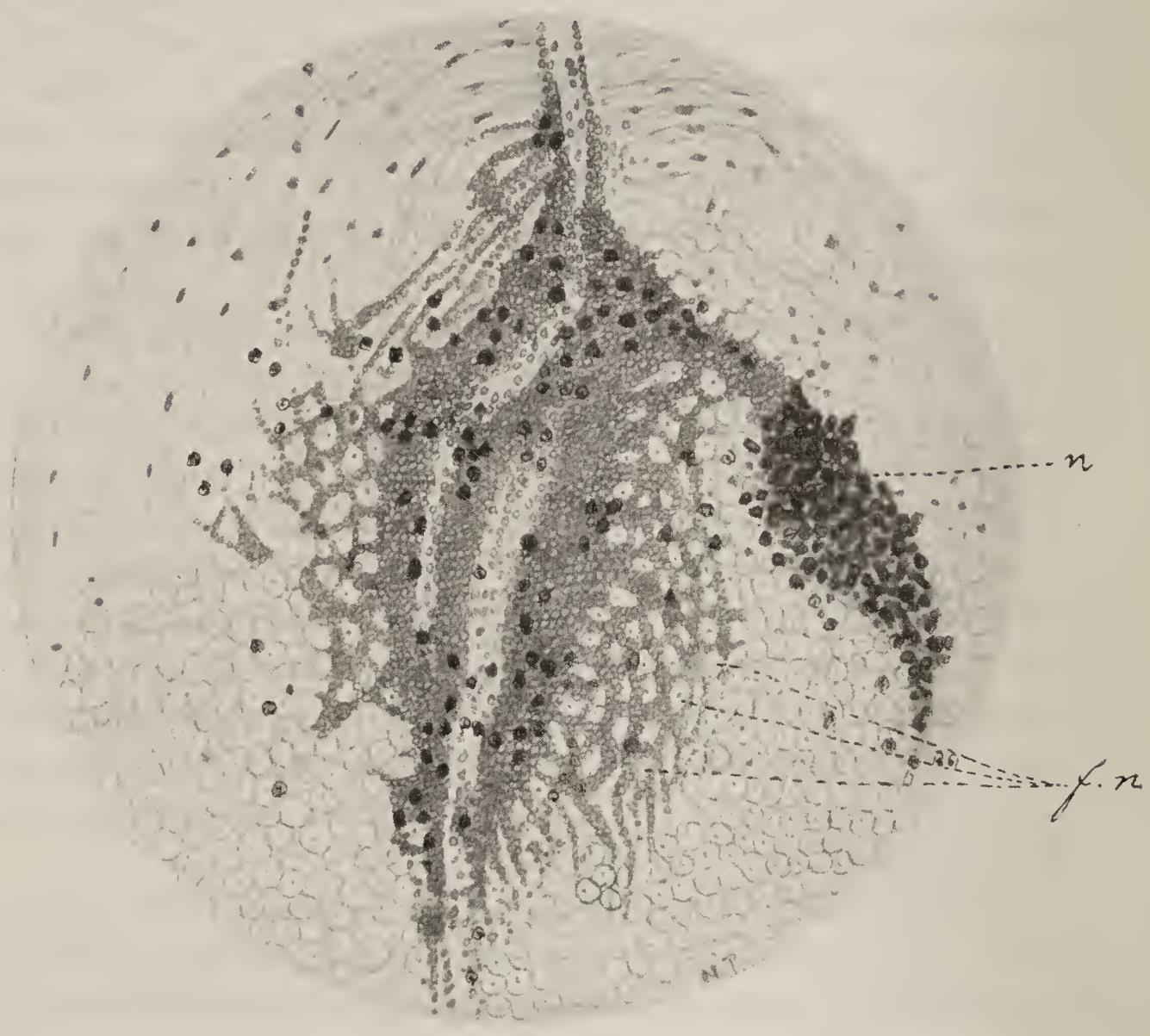


Fig. 1. — Coupe transversale d'un faisceau du nerf médian montrant une hémorragie en nappe à la périphérie de laquelle on voit quelques fibres nerveuses écartées (*fn*), tandis que, dans la partie centrale du foyer, il n'y a pas traces de fibres nerveuses. A droite du foyer on voit un nodule (*n*).

diaire des travées du tissu conjonctif qui s'en détachent jusque dans le mésonèvre et, de là, dans l'intérieur des faisceaux nerveux.

La structure histologique de ces nodules et la constitution des éléments qui entrent dans leur formation ne sont pas uniformes et, généralement parlant, on y trouve des lympho-

cytes, des mononucléaires basophiles, des cellules plasmatiques surprises à différentes phases de leur évolution, des polynucléaires, quelques mastzellen et, à la périphérie, quelques cellules de la gaine de Schwann, à protoplasma gonflé, riche en granulations de Reich et à noyau vésiculeux. Dans la

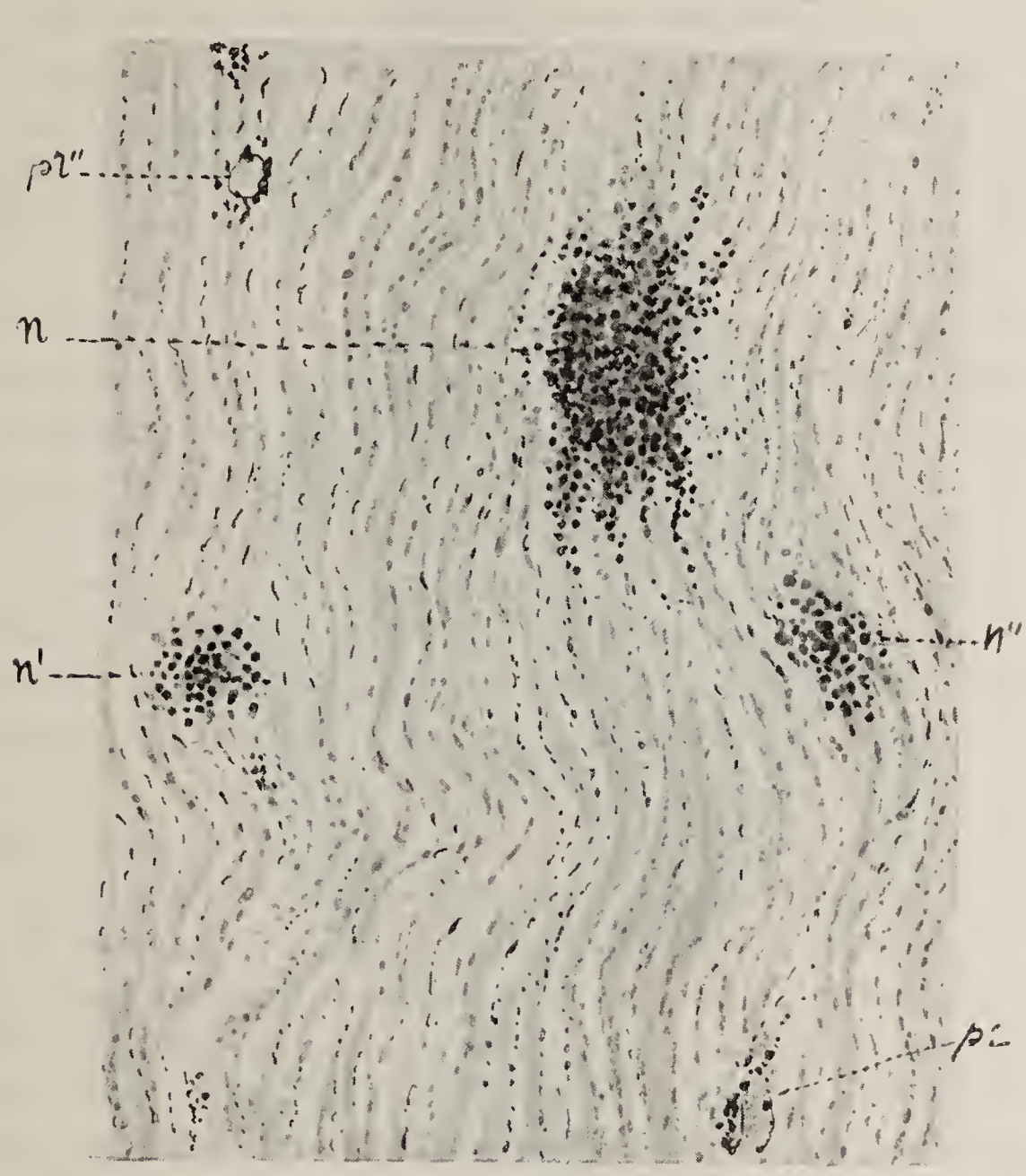


Fig. 2. — Coupe longitudinale du nerf brachial cutané externe montrant la présence de trois nodules différents, *n*,*n'*,*n''*, et de l'infiltration périvasculaire *pr*,*pr''*. En outre, il y a prolifération des fibroblastes et hypertrophie des cellules de Schwann.

figure 2 on voit trois nodules dans un faisceau nerveux, celui qui est au centre plus volumineux que les deux autres; comme on le voit (*n'*, *n''*) ils affectent des formes et dimensions variables.

Les hémorragies ne sont pas exceptionnelles dans les nerfs altérés par le processus du typhus exanthématique. La figure 3

nous montre l'aspect d'une pareille hémorragie située au voisinage d'un nodule (*n*). On voit comment les globules rouges s'infiltrent entre les fibres nerveuses qui sont invisibles dans la partie centrale du foyer hémorragique, tandis qu'à la périphérie elles sont portées par la masse des globules rouges du sang. A la périphérie du foyer hémorragique on voit bien la coupe transversale de la myéline et du cylindraxe qui conserve l'aspect normal. On peut suivre la lésion inflammatoire et nodulaire des nerfs périphériques jusqu'aux ganglions spinaux et de là par l'intermédiaire des racines antérieures et postérieures elles arrivent aux méninges et à la moelle.

Les altérations que nous avons trouvées (1) ne paraissent pas compromettre d'une façon notable l'intégrité des fibres nerveuses ; pour la plupart du temps les fibres sont comprimées, écartées sans que l'on aperçoive au voisinage des foyers inflammatoires des produits de désintégration colorés par le Sudan, et nous pensons qu'il doit y avoir toujours la dégénérescence de quelques fibres nerveuses, ainsi qu'il résulte de la coloration d'un trajet de la myéline des fibres par le Sudan et la présence de macrophages chargés de lipoïdes dans la paroi de quelques petits vaisseaux.

Un point que nous devons souligner, c'est que l'infiltration paraît être localisée dans les espaces lymphatiques, dans la capsule et dans les gaines des petites veinules du tissu conjonctif inter- et intrafasciculaire. La paroi des petites artérioles est normale. D'autre part, nous avons constaté que l'endothélium des petits capillaires ou des petites veines est gonflé, le noyau vésiculeux à chromatine pâle et même parfois cet endothélium se détache et flotte dans la lumière du vaisseau. Mais nous n'avons jamais rencontré, avec les méthodes habituelles, une altération visible de la paroi des vaisseaux infiltrés.

Il est vrai que les hémorragies assez fréquentes que nous avons observées dans les nerfs périphériques supposent une

(1) Un résumé de ce travail fait en collaboration avec E. Craciun a été communiqué par M. Roux à l'Académie des Sciences : G. Marinesco et E. Craciun. Lésions du système nerveux dans le typhus exanthématique et leur rapport avec la névrite ascendante. *C. R. Acad. des Sciences*, séance du 17 mai 1921.

altération de la paroi vasculaire, ce que nous admettons très volontiers, sans être en état d'affirmer que cette altération est

Fig. 3. — Coupe longitudinale d'un ganglion dorsal montrant la topographie générale des lésions consistant dans l'infiltration péricellulaire, l'infiltration diffuse interstitielle et présence des nodules (n,n'). On voit, en outre, la différence entre le processus inflammatoire qui existe au niveau du pôle interne d'où se détache la racine postérieure et le pôle externe du ganglion. Dans le premier, on voit p,p',p'', des foyers d'inflammation très visibles même au petit grossissement, pi' indique un nodule.

identique à celle décrite par Frenkel (1) dans les vaisseaux de la peau et divers vaisseaux.

Le *nerf optique*, comme *le chiasma*, ont été retrouvés altérés, dans tous les quatre cas examinés, mais l'intensité des lésions varie avec celles qu'offre le système nerveux central. C'est ainsi que dans le premier cas, où nous avons trouvé des altérations très graves dans le système nerveux, le nerf optique comme le chiasma offrent non seulement une infiltration notable des petits vaisseaux et des capillaires, mais également des nodules disséminés. Dans les autres trois cas, les nodules sont beaucoup plus rares et, dans le dernier où les altérations du système nerveux central étaient plus discrètes, même les infiltrations des petits vaisseaux étaient très réduites. La même remarque s'applique aux altérations de l'endothélium qui a un protoplasma abondant et à contour polygonal, à noyau petit, cellules d'aspect épithéloïde, d'autres fois par des cellules ressemblant aux cellules plasmatiques et des lymphocytes. Dans les cellules adventicielles on trouve des granulations sudanophiles plus nombreuses au voisinage des pôles du noyau.

Les infiltrations vasculaires et les nodules se retrouvent également dans les bandelettes olfactives. Dans leur constitution il entre des mononucléaires basophiles, des lymphocytes et autres cellules qui proviennent de la paroi des vaisseaux. Il n'y a pas de corps granuleux dans le parenchyme nerveux et on voit une grande quantité de corpuscules amylacés. L'enveloppe conjonctive des bandelettes offre une infiltration vasculaire constituée par des lymphocytes et quelques macrophages.

Nous avons examiné les ganglions rachidiens, lombaires, dorsaux et cervicaux dans trois cas de typhus exanthématique, et dans les trois cas nous avons noté des altérations dont l'intensité marche de pair avec celle des lésions de la moelle épinière. Il y a donc un parallélisme entre les altérations inflammatoires des ganglions spinaux et celle de l'axe spinal. Les altérations des ganglions spinaux, et nous allons prendre comme type celle que nous avons vue dans le quatrième

(1) E. Frenkel, Zur Fleckfieberdiagnose. *Münch. med. Woch.*, 1915, **62**, p. 805.

ganglion lombaire du malade P., consistent dans une infiltration du pôle radiculaire externe du ganglion lui-même, du nerf radiculaire et des racines postérieures. Au niveau du pôle radiculaire externe, le tissu conjonctif péri- et intrafasciculaire offre des traînées cellulaires qui écartent soit les faisceaux nerveux, soit les fibres qui les constituent (fig. 3). Cette infiltration peut affecter parfois la forme de nodules, que nous retrouvons beaucoup plus nombreux à l'intérieur du ganglion lui-même. Les nodules intraganglionnaires se présentent soit sous forme de nodules péricellulaires, c'est-à-dire que l'infiltration englobe un groupe plus ou moins grand de cellules nerveuses qui sont réduites de volume et même de nombre. Ces nodules péricellulaires, qui siègent aussi bien à la périphérie du ganglion qu'à la partie centrale, ont une constitution complexe, comme du reste ceux des nerfs périphériques. On y voit des cellules d'irritation de Türk ou celles qui simulent les cellules plasmatiques, des mononucléaires à protoplasma basophile, des lymphocytes et des polynucléaires. En outre, on peut y reconnaître plusieurs mastzellen. Cette infiltration cellulaire se trouve, tout au moins dans quelques cas, en rapport avec les petits vaisseaux. Les cellules satellites qui enveloppent le corps de la cellule nerveuse sont proliférées. A la face de la cellule nerveuse profondément altérée, voire même disparue, il se forme un nodule résiduel (fig. 4, *n*), identique à celui qu'on voit dans la rage et qui n'est pas spécifique de cette dernière affection. En dehors de cette infiltration péricellulaire et intracellulaire, il y a dans notre cas une infiltration diffuse plus accusée également à la périphérie et sur la capsule du

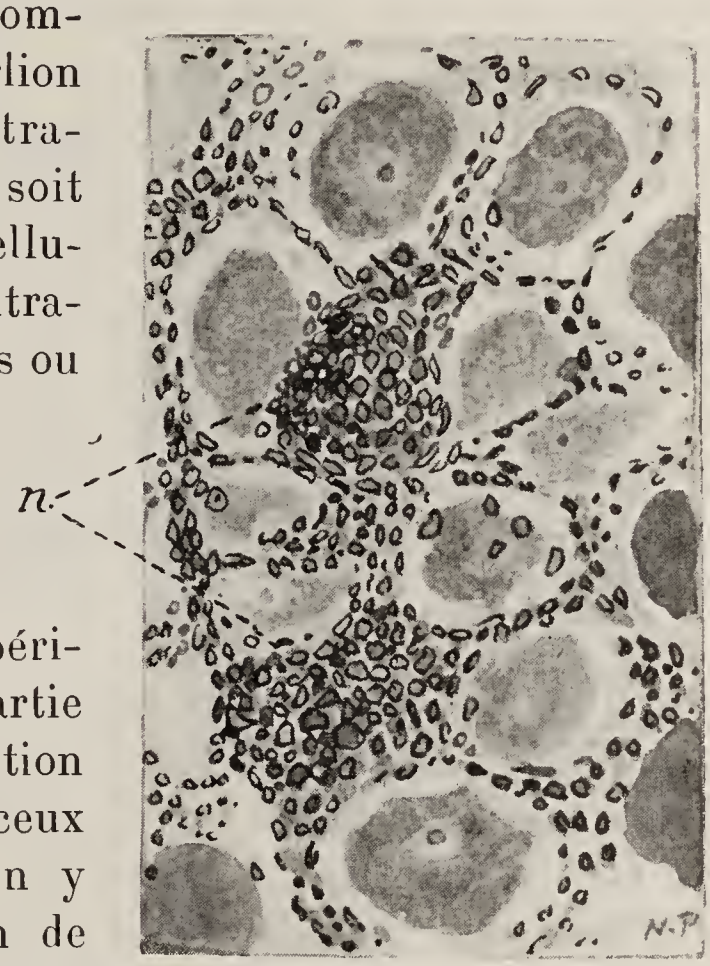


Fig. 4. — Coupe représentant une portion du ganglion spinal destinée à montrer l'existence de 2 nodules qui simulent des nodules rabiques (*n*).

ganglion. Cette infiltration paraît converger au niveau des faisceaux qui constituent le pôle interne du ganglion. La figure 3 nous donne une vue générale de l'infiltration des pôles interne et externe et du ganglion même, dans lequel on peut voir, à un faible grossissement, des nodules péricellulaires ou intracellulaires. Nous avons dit plus haut qu'on peut rencontrer dans le ganglion du typhus des nodules semblables à ceux de la rage et dont la figure 4 nous donne une idée. Nous devons ajouter que ces nodules sont beaucoup moins nombreux dans le typhus, l'action nécrosante du virus rabique sur le corps du neurone étant probablement plus puissante.

Le nerf radiculaire offre une infiltration bien nette des faisceaux sous forme d'endo- et périnévrite qui augmente d'intensité avant de traverser la dure-mère. Au niveau du cul-de-sac des racines, on aperçoit une accumulation marquée, surtout de mononucléaires. Au niveau de l'émergence des racines postérieures, le processus inflammatoire devient un peu plus intense.

Nous avons constaté des lésions également dans les racines de la queue de cheval, mais elles sont moins intenses que dans les nerfs périphériques. Elles consistaient dans l'infiltration des gaines des petits vaisseaux, la prolifération du tissu inter- et intrafasciculaire. Les cellules de l'endothélium sont parfois tuméfiées, sans être détachées de leur place.

La moelle épinière est particulièrement touchée dans les formes graves de typhus exanthématique, et l'intensité des lésions qu'elle présente marche de pair avec celles d'autres centres nerveux. Nous observons, dans la moelle, des altérations du côté des méninges, de la substance blanche et de la substance grise. Dans les méninges comme dans la substance médullaire ce ne sont pas les vaisseaux d'un certain calibre qui offrent des changements, mais bien les petits vaisseaux, les veinules, les précapillaires et les capillaires.

Dans les méninges molles on constate un épaississement et le gonflement des lamelles qui les constituent, une prolifération des fibroblastes et la présence d'un réseau capillaire à parois garnies de mononucléaires, de cellules qui ressemblent aux cellules plasmatiques. En outre dans les espaces des lymphatiques se trouvant entre les lamelles des méninges, il y a une infiltra-

tion par les lymphocytes, quelques polynucléaires et beaucoup de macrophages.

Dans la moelle épinière la lésion la plus caractéristique consiste dans la présence des nodules disséminés aussi bien dans la substance grise (fig. 5) que dans la substance blanche, intéressant toute la région lombo-sacrée, dorsale et cervicale. Leur nombre, dans la substance grise, est proportionnel au volume

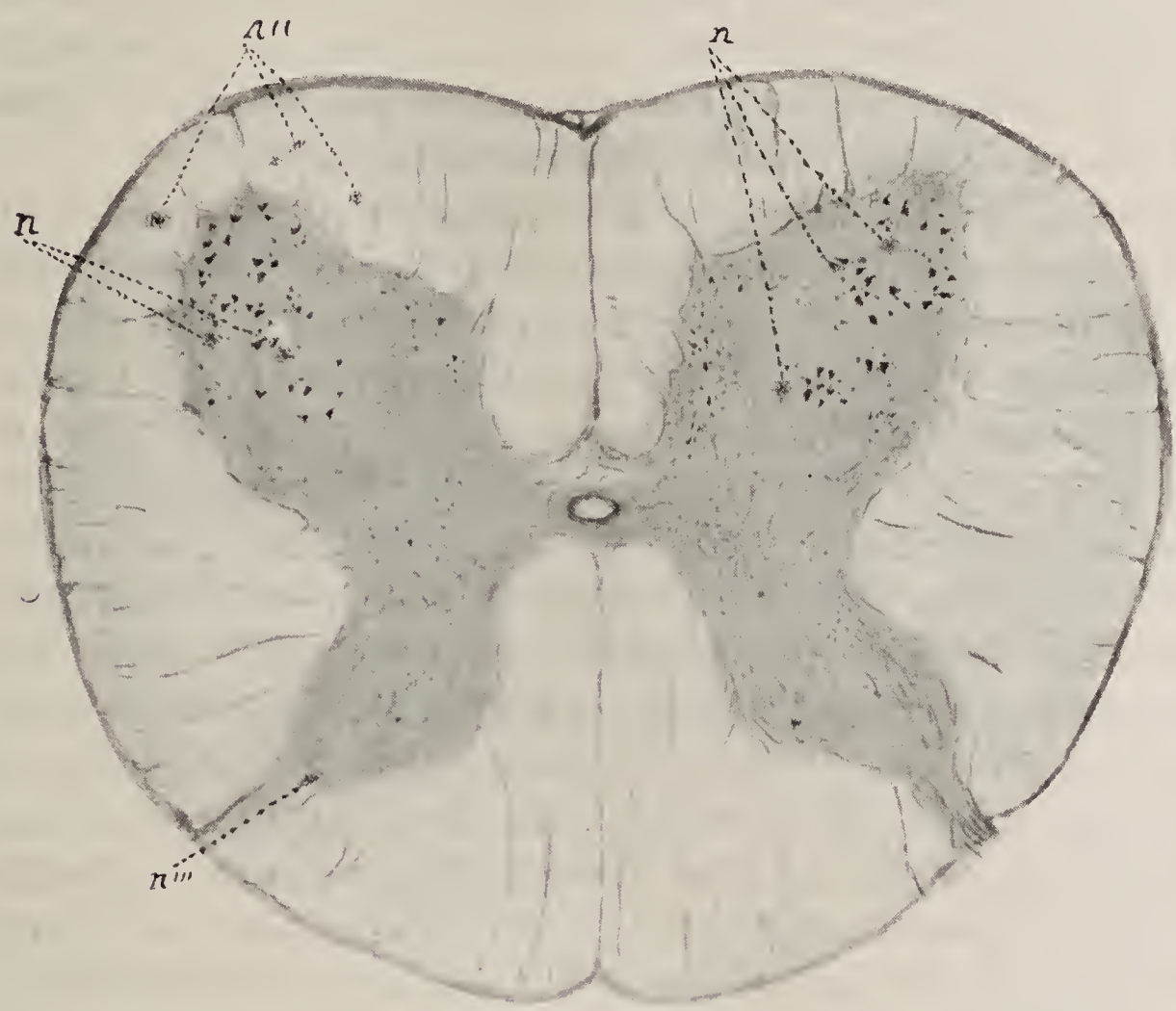


Fig. 5. — Topographie des nodules dans la moelle de la région lombaire. La plupart des nodules (n') siègent dans la substance grise antérieure entre les cellules nerveuses. Mais un certain nombre (n'') sont localisés dans la substance blanche qui avoisine le groupe antéro-externe de la corne antérieure gauche. Il y a, en outre, tout près de la substance gélatineuse de la corne postérieure, un nodule n'''.

de celle-ci, c'est-à-dire qu'ils sont plus nombreux dans les renflements de la moelle épinière; ils siègent de préférence dans la corne antérieure, quoiqu'on les retrouve aussi dans la corne postérieure et dans les colonnes de Clarke. Leur volume peut varier entre 120 $\mu \times 90$ μ et 240 $\mu \times 120$ μ. La forme est irrégulière comme leur contour. Au premier abord nous sommes frappés par l'aspect des noyaux des cellules qui constituent ces

nodules. Ce sont des noyaux clairs plus ou moins ronds et d'autres réniformes, ovoïdes, en croissant, étranglés, etc.; il y a des noyaux en karyokinèse.

Tous les auteurs qui ont voulu faire une analyse détaillée sur la nature des noyaux et les espèces cellulaires qui se trouvent dans l'adventice des petits vaisseaux se sont heurtés à de grosses difficultés, et c'est précisément cette difficulté qui nous explique pourquoi Spielmeyer (1) prétend que ces nodules sont formés principalement par des cellules névrogliques avec la participation de quelques autres éléments, tandis que Fraenkel, Benda et Licen ne décrivent pas de pareilles cellules.

Dans la gaine adventice des vaisseaux on ne trouve que rarement des cellules plasmatiques typiques. En effet, celles qui simulent des cellules plasmatiques n'ont pas un noyau excentrique avec espace clair périnucléaire et l'aspect spécial de la chromatine. Aussi croyons-nous que, dans la substance grise, les cellules qui constituent les nodules sont, en première ligne, des cellules adventicielles, des polyblastes, des lymphocytes et quelques polynucléaires dont le nombre est très variable. Nous avons vu parfois un nodule qui embrassait la paroi d'un vaisseau précapillaire. Il n'entre pas dans notre pensée de nier la participation des cellules névrogliques dans la constitution de ces formations de la substance grise de la moelle; mais nous considérons que la réaction névroglique est d'ordre secondaire et elle se passe à la périphérie du nodule, ou bien ces cellules névrogliques se trouvent mêlées avec d'autres de l'adventice et aussi avec des cellules d'infiltration. En dehors de ces nodules de nature vasculaire il y en a d'autres d'origine névroglique plus lâches que les précédents et même ces derniers offrent plusieurs variétés. Ils peuvent ressembler par leur configuration à la disposition arborescente décrite par Spielmeyer, dans la première couche du cervelet. Parfois ces nodules névrogliques ont la forme de rosettes, c'est-à-dire que les cellules ont une disposition rayonnante et vont s'insérer par leurs prolongements sur la paroi des vaisseaux. Enfin on peut voir dans la substance blanche une prolifération des cellules de l'adventice et des

(1) W. Spielmeyer, Die zentralen Veränderungen beim Fleckfieber und ihre Bedeutung für die Histopathologie der Hirnrinde. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*, 1919, p. 1.

cellules immigrées immédiatement à la surface d'un petit vaisseau, tandis qu'aux alentours il y a un grand nombre d'astrocytes; on a l'impression que le nodule est plongé dans cette masse de cellules névrogliques. Dans les rosettes et dans les formations névrogliques arborescentes on trouve des lésions régressives des cellules névrogliques. Le rapport des nodules avec les petits vaisseaux est différent dans la substance grise et dans la substance blanche. Dans la première, le nodule se continue avec le petit vaisseau, dont on ne peut pas suivre le trajet au delà du nodule, le vaisseau paraît se terminer dans le nodule; la seconde disposition est celle où le vaisseau traverse le nodule et garde sa continuité. Enfin dans une troisième disposition le nodule est attaché à un côté du vaisseau.

Le nodule peut siéger quelquefois à la bifurcation d'une petite veinule. Comme nous l'avons dit plus haut, ce ne sont pas les vaisseaux d'un plus gros calibre qui sont altérés; ainsi voyons-nous dans les vaisseaux du sillon antérieur et du sillon postérieur, qu'ils n'offrent pas de lésions, en dehors de la dilatation et de l'hyperémie. D'autre part, les altérations péri-vasculaires sont plus accusées là où un vaisseau pénètre de la substance blanche dans la substance grise. D'autre part, nous avons observé le fait suivant : on peut voir dans la substance blanche des vaisseaux, avec une petite infiltration de la paroi, contenant dans leur intérieur beaucoup de leucocytes qui remplissent presque la lumière du vaisseau.

D'autre part, il y a des petits vaisseaux qui ont une tuméfaction accusée, voire même considérable de l'endothélium. Le noyau est vésiculeux et pâle, et quelques cellules paraissent se détacher de la paroi pour obstruer la lumière, surtout quand il s'agit d'un capillaire.

Les lésions des cellules nerveuses sont, en général, minimes. Rarement on en rencontre avec une achromatose centrale. Ces lésions existent cependant quand il s'agit des nodules juxta-cellulaires et surtout lorsque ces derniers englobent la cellule nerveuse. Celle-ci est réduite de volume comme ses prolongements, le noyau est atrophique et la substance chromatophile en désintégration. Dans un autre cas nous avons trouvé des nodules dans le bulbe, le cervelet et le cerveau; ils faisaient complètement défaut dans la moelle épinière. Il y avait dans ce

cas une infiltration de quelques veinules par des lymphocytes et des cellules pseudo-plasmatiques, et nous avons noté surtout des hémorragies nombreuses péri-capillaires et des épanchements sanguins dans le tissu nerveux, que nous avons trouvés également dans la substance grise.

Le bulbe est un organe de prédilection pour les lésions du typhus exanthématique, et les nodules siègent non seulement dans les olives, comme certains auteurs l'ont soutenu, mais aussi dans la substance grise épendymaire et dans la substance réticulée, dans les noyaux prépyramidaux. Dans un cas où les lésions étaient moins intenses dans la moelle que dans le bulbe, les lésions des méninges étaient bien nettes, mais sans être très accusées, des lésions vasculaires intéressant les petites veines consistent dans l'augmentation des fibroblastes. L'infiltration des méninges molles se fait par des lymphocytes (de différentes grandeurs) et des macrophages. Il s'y ajoute des mononucléaires et quelques globules rouges de sang. L'endothélium des veines est gonflé et tuméfié. Dans le protoplasma des macrophages siègent des débris nucléaires de cellules phagocytées. Dans la substance grise comme dans la substance blanche du bulbe il y a une réaction névroglique consistant dans l'hypertrophie et la multiplication des cellules névrogliques, visible même avec la méthode de Nissl. Les veinules et les précapillaires contiennent dans leur paroi de nombreuses cellules de différents types parmi lesquelles on doit noter des cellules ressemblant à des cellules plasmatiques, des mononucléaires à protoplasma basophile, des lymphocytes, quelques polynucléaires et des cellules adventicielles. L'infiltration des petits vaisseaux précapillaires est plus considérable et enveloppe complètement le vaisseau.

De pareilles infiltrations se trouvent également dans les capillaires, mais moins accusées; souvent on peut voir des cellules endothéliales à noyau pâle, vésiculeux. Par la compression réciproque les cellules à protoplasma basophile, qui enveloppent les veines et les précapillaires, offrent souvent l'aspect des cellules épithéloïdes, mais quelquefois on aperçoit des cellules plasmatiques très caractéristiques. Les nodules ont des dimensions qui varient entre 205 $\mu \times 120\ \mu$ et 100 $\mu \times 62\ \mu$. Leur constitution histologique dépend de leur volume. Il y en

a de petites et de grandes dimensions, constitués essentiellement par des cellules névrogliques. Leur densité varie également, et parfois les cellules névrogliques proliférées constituent un nodule très lâche, tandis que d'autres, au contraire, où les cellules sont rapprochées, ont une apparence plus compacte ; mais d'habitude dans la constitution de ces derniers il entre aussi en dehors des cellules névrogliques d'autres éléments de souche différente, comme par exemple des cellules d'aspect plasmatique et des polynucléaires. Le contour des nodules névrogliques est moins précis que celui qui est formé par des cellules d'origine vasculaire. Du reste, ce qui contribue à la variation d'aspect des nodules, c'est que, parfois, ils se développent autour d'un capillaire ou précapillaire ; il n'est pas rare que plusieurs vaisseaux prennent part à sa formation. Il est à remarquer qu'un certain nombre de nodules n'affectent pas de rapports avec les vaisseaux, mais si cette indépendance est admissible pour l'hyperplasie nodulaire plus ou moins lâche disséminée dans la substance blanche du bulbe, et si même cette hyperplasie névroglique a lieu quelquefois sous forme de rosette autour d'un vaisseau, il n'en est pas de même pour les nodules compacts qui, en des coupes serrées, montreraient probablement des rapports de dépendance entre eux et les vaisseaux, ainsi que l'a montré Spielmeyer.

Il faut ajouter, en outre, que les plexus choroïdes au niveau du 4e ventricule offrent des lésions des vaisseaux et, par-ci par-là, on aperçoit des nodules.

L'hyperplasie névroglique comme du reste les nodules compacts qui ont une structure plus complexe siègent dans la substance grise entre les cellules nerveuses, de sorte que ces dernières offrent une structure à peu près normale ; mais lorsque les nodules font leur apparition tout près d'elles, celles-ci peuvent subir certaines modifications consistant dans la diminution des prolongements, la tuméfaction du corps cellulaire, la soi-disante chromatolyse centrale et le noyau excentrique.

Dans le bulbe comme dans la moelle on ne voit pas beaucoup de cellules plasmatiques, dans l'infiltration vasculaire, qui soient tout à fait typiques, mais celles-ci ne font pas complètement défaut.

Les racines des nerfs bulbaires (neuf et dix) offrent non seulement des lésions vasculaires, mais on peut trouver à leur intérieur des nodules typhiques.

Pédoncule. — Réaction méningée ayant les mêmes caractères que dans le bulbe. Présence à la surface de la pie-mère d'un conglomérat de cellules simulant un nodule. On sait que ceux-ci font complètement défaut dans les méninges. Existence d'un nombre considérable de semblables formations nodulaires, dans les tubercules quadrijumeaux, parmi lesquelles on trouve un certain nombre de rosettes caractéristiques. Le corps des cellules névrogliques est pourvu d'une masse granuleuse basophile. En dehors de ces rosettes on aperçoit çà et là une hyperplasie névroglique périvasculaire, les cellules ayant deux ou trois noyaux.

En dehors de ces nodules névrogliques et des rosettes on peut distinguer encore des nodules plus compacts où l'existence de la névroglie est très nette à la périphérie, tandis que dans la partie centrale on ne peut pas toujours affirmer qu'il s'agisse seulement de cellules névrogliques. Dans la substance noire les nodules sont beaucoup plus rares et les cellules nerveuses ont une structure normale. Il n'y a pas notamment de processus de cytolyse, tel que je l'ai vu dans l'encéphalite léthargique. Exceptionnellement on rencontre des nodules péricellulaires comprimant la cellule nerveuse et altérant sa structure. Les lésions des vaisseaux sont également localisées autour des petites veines et des précapillaires, tandis que la paroi des artérioles n'est pas touchée. Parmi les cellules qui se trouvent dans l'adventice on reconnaît des cellules plasmatiques, des lymphocytes, en dehors des macrophages et des cellules épithéloïdes.

Une autre altération qui mérite d'être signalée et que je n'ai pas trouvée dans tous les segments avec la même intensité, c'est celle des suffusions sanguines périvasculaires, véritables pétéchies des centres nerveux.

Les dimensions des nodules du pédoncule varient entre 150 $\mu \times 140$ μ et 240 $\mu \times 200$ μ.

Le cervelet. — L'écorce du cervelet constitue une région des plus favorables pour l'apparition des nodules névrogliques de différentes formes, comme l'a montré Spielmeyer pour la première fois. Il est vrai que dans la première couche siègent de

préférence des nodules pareils, de formation névroglique; on peut en voir d'autres où peuvent se trouver aussi d'autres éléments que des mononucléaires basophiles ou des lymphocytes. On rencontre des images qui nous représentent dans la partie centrale un sillon où les méninges et l'adventice sont infiltrées par des cellules et par de petits vaisseaux rayonnant dans la première couche du cervelet et présentant une infiltration par les mêmes éléments que la pie-mère. Mais il y a cependant une différence en ce sens que dans la pie-mère on peut rencontrer des macrophages de dimensions considérables ayant englobé dans leur cytoplasma un polynucléaire ou un mononucléaire. Les macrophages, en outre des débris nucléaires, peuvent contenir du pigment vert ou jaune. Ensuite on peut apercevoir parfois des nodules entre les cellules de Purkinje et dans la couche granulaire, mais cette éventualité est très rare. La plupart des nodules n'atteignent les mêmes proportions que dans la moelle, le bulbe ou le cerveau; néanmoins nous avons constaté dans la couche moléculaire du cervelet un nodule considérable, constitué presque exclusivement par des celllues névrogliques pourvues d'un corps protoplasmique riche et coloré par la thionine. A la périphérie de ce nodule il y a beaucoup de cellules en bâtonnet.

Comme Spielmeyer nous avons eu l'occasion de constater, dans le cervelet, des nodules dont la constitution névroglique ne permet pas de doute. Ce sont des agglomérations d'astrocytes formant un nodule lâche à la périphérie duquel on voit assez souvent des cellules en bâtonnet ou de forme triangulaire. Parfois cette réaction névroglique est en rapport immédiat avec un vaisseau. Cependant ce n'est pas toujours le cas, et il existe des nodules lâches névrogliques qui ne présentent pas, tout au moins en apparence, de relations avec un capillaire. Il ne faut pas penser que tous les nodules du cervelet, même ceux de la première couche, sont uniquement névrogliques. On peut en rencontrer d'autres où les cellules névrogliques n'existent qu'à la périphérie, tandis que le nodule lui-même est constitué par des cellules de Türk et des polyblastes.

Pour l'analyse des lésions du *cerveau* dans le typhus exanthématique nous avons prélevé des fragments de divers

types de l'écorce, et nous avons pu constater que certaines régions sont plus touchées que d'autres; parmi celles-ci il faut noter en première ligne les lobes frontal et temporal, les lésions sont moindres dans le lobe sphénoïdal et très atténuées ou faisant même complètement défaut dans le lobe occipital. Il faut noter en outre que les lésions peuvent exister aussi dans les méninges, comme c'est le cas pour le lobe occipital, sans qu'elles se retrouvent dans l'écorce cérébrale. Cela ne veut pas dire que les lésions de l'écorce ne soient pas transmises des méninges, car leur propagation des unes à l'autre ne fait pas le moindre doute; mais, d'une manière générale, plus les lésions sont intenses dans les méninges plus il y a des altérations vasculaires dans l'écorce, et les nodules y sont en plus grand nombre. Ces derniers font défaut dans les méninges; une seule fois cependant nous avons trouvé un nodule bien délimité au niveau de la pie-mère recouvrant la région de la corne d'Ammon. Il était constitué essentiellement par des mononucléaires à protoplasma basophile et par un ou deux lymphocytes moyens, tandis qu'à sa périphérie on y voyait des cellules adventicielles. Autrement dit, l'infiltration des méninges et des petits vaisseaux offre les mêmes particularités dans le bulbe, dans la moelle, etc., et peut-être est-elle plus intense dans ces dernières régions.

La méningite n'est pas uniformément prononcée; même dans un même territoire il y a en effet des endroits où l'infiltration est considérable et d'autres où l'infiltration est réduite à quelques macrophages, fibroblastes, lymphocytes, mononucléaires basophiles. A la surface du cerveau, entre la pie-mère et l'écorce, on aperçoit une suffusion sanguine, la première couche est sillonnée par des capillaires et des petits vaisseaux allant dans diverses directions, coupés tantôt transversalement, tantôt longitudinalement; dans leurs parois on aperçoit une infiltration par des mononucléaires basophiles et d'autres ressemblant à des cellules plasmatiques. Leur nombre varie d'une région à l'autre. Parfois ces cellules sont nombreuses et enveloppent complètement le vaisseau. Il existe en outre dans la première couche une hypertrophie et une hyperplasie des cellules névrogliques qui réalisent tantôt une formation nodulaire assez bien circonscrite, tantôt une formation lâche et

diffuse. Rarement on rencontre de véritables rosettes, dans la constitution desquelles les cellules en bâtonnet jouent un rôle assez important.

On voit çà et là des petits nids d'astrocytes. En dehors de ces nodules névrogliques on aperçoit dans la substance grise beaucoup de cellules en bâtonnet et des astrocytes.

Les cellules nerveuses sont en général intactes ; ni leur substance cromatophile ni leur appareil neurofibrillaire ne sont altérés.

Le protoplasma des cellules névrogliques se teint en bleu par la thionine. Les gros nodules typhiques sont situés dans toutes les couches de l'écorce et ne paraissent affecter davantage l'une ou l'autre, cependant ils paraissent un peu plus fréquents dans les couches moyennes ; ces nodules offrent des formes et des dimensions, voire même des structures différentes. En général ils ont une structure complexe, c'est-à-dire que des éléments d'ordre différent prennent part à leur constitution.

En résumé, dans les formes graves de typhus exanthématique, les lésions sont généralisées à tout le système nerveux central et périphérique inclusivement, les ganglions spinaux et les ganglions des nerfs craniens. Il existe dans tous les nerfs périphériques, dans les nerfs optique et olfactif un processus de périendonévrite, qui se propage de la surface du nerf vers la profondeur, et de la périphérie sur tout son parcours jusqu'aux ganglions spinaux correspondants. En dehors de l'infiltration des espaces lymphatiques et des veinules on trouve, dans les nerfs périphériques et dans les nerfs craniens, des nodules en rapport intime avec le trajet des vaisseaux. Ils sont constitués d'habitude par des lymphocytes, des mononucléaires basophiles, des cellules plasmatiques, des polynucléaires et aussi par des cellules provenant de la gaine externe des vaisseaux. L'endothélium est gonflé. La méningite, tout en variant d'intensité, se retrouve au niveau de l'axe spinal, du cervelet et du cerveau. Dans tous les centres nerveux, et particulièrement dans la substance grise, on trouve des nodules presque toujours en rapport avec le trajet des petits vaisseaux et de leurs ramifications, dont la constitution varie avec les régions où ils apparaissent. Dans les ganglions spinaux ils peuvent simuler l'aspect des nodules rabiques ; dans la substance

blanche de la moelle, et surtout dans la première couche du cerveau, ils ont une forme arborescente et sont constitués par des cellules en bâtonnet et triangulaires. L'analyse des lésions trouvées nous suggère l'idée que dans l'infection des centres nerveux, en dehors de la voie sanguine, la voie lymphatique joue un rôle principal, et qu'aux centres nerveux le virus arrive par un processus de névrite ascendante qui gagne progressivement le trajet des nerfs, en envahissant les ganglions spinaux et craniens et presque en même temps les centres nerveux correspondants. La virulence du liquide céphalo-rachiden, due probalement au processus de névrite ascendante, contribue à la diffusion des lésions. D'ailleurs la pathologie expérimentale vient à l'appui de cette manière de voir. En effet les recherches expérimentales de Homen et Laitinen (1), de David Orr et Rows (2), de Zalla (3) ont montré avec la dernière évidence que les microbes remontent vers les centres par les nerfs et qu'on peut suivre sur le parcours de ceux-ci jusque dans les ganglions et la moelle où ils produisent des lésions. Déjà les expériences plus anciennes de Vestea et Zagari, de Noccard, de Babès, de Roux avaient remis en évidence le fait que le virus rabique se propage au point de l'inoculation vers le système central. Depuis les expériences de A. Marie nous savons aussi que le poison tétanique est susceptible de suivre la voie nerveuse. Puis sont venues les expériences de Landsteiner et Popper, de Landsteiner et Levaditi, de Römer et les nôtres qui ont montré, à l'aide des expériences très précises, que la propagation du virus dans la polyomyélite infantile se fait par les nerfs périphériques.

Il est vrai qu'il y a des auteurs qui ont nié la possibilité d'une propagation des microbes le long des nerfs jusqu'à la moelle. C'est ainsi que M. Sicard (4) a été amené à penser que la théorie de l'envahissement successif ascendant des troncs

(1) E. A. Homen et Laitinen, Die Wirkung von Streptokoken auf periphere Nerven, Spinalganglien und das Rückenmark. *Beiträge zur pathologischen Anatomie und allgemeine Pathologie*, 1899, **25**, I.

(2) D. Orr et R. G. Rows, Lésions of the spinal cord. *Review of Neurology and Psichiatry*, 1906, **4**.

(3) Mario Zalla, *La névrite ascendante*, Firenze, 1913.

(4) J.-A. Sicard, Névrite ascendante et syringomyélie consécutive. *Revue neurologique*, 1905, **13**. *Le syndrome de névrite ascendante*, Rennes, F. Simon, 1905.

nerveux par des microbes banaux ou spécifiques ne mérite pas gain de cause.

Cependant l'existence de la névrite ascendante, c'est-à-dire d'un processus pathologique qui se propage de proche en proche de la périphérie vers la moelle, ne fait pas de doute. Nous avons publié, en 1898 (1), un exemple classique de ce genre où nous avons pu suivre le processus pathologique à partir de la zone infectée, dans l'espèce la partie inférieure de la jambe, le long des nerfs jusque dans la moelle épinière correspondante.

Après nous, Guillain, Dejerine et André Thomas, Léri, Zalla, sont revenus sur la question en publiant des documents anatomo-cliniques ou des recherches expérimentales pour soutenir l'existence de la névrite ascendante.

(1) G. Marinesco, Contribution à l'étude de la névrite ascendante. *La Presse Médicale*, 1898, n° 96.

SUR LA RÉPARTITION DU MANGANÈSE DANS L'ORGANISME DES PLANTES SUPÉRIEURES

par Gabriel BERTRAND et Mme M. ROSENBLATT.

L'existence du manganèse dans les organes des plantes a été recherchée dans un nombre déjà considérable de cas, et, récemment, nous avons démontré que l'on devait la considérer comme tout à fait générale, les exceptions signalées n'étant dues qu'à l'emploi de méthodes analytiques incorrectes ou d'une sensibilité insuffisante (1).

Nous nous sommes préoccupés, depuis, de déterminer, d'une façon plus complète et plus précise qu'on l'avait essayé jusqu'ici, le mode de répartition du métal dans les organes des plantes et, en particulier, des plantes supérieures. On s'était contenté de comparer seulement quelques organes d'une même plante ou, plus habituellement, des organes appartenant à des individus d'origines et même d'espèces différentes. En outre, on avait négligé de tenir compte de la période de végétation qui, cependant, influe beaucoup sur la composition chimique.

Il nous a semblé que, pour mieux apprécier l'importance physiologique du manganèse, il fallait doser le métal, non seulement dans le plus grand nombre possible d'organes, mais encore dans les organes d'une même espèce recueillie à un moment déterminé de la végétation. C'est ce que nous avons fait sur une dicotylédone, le tabac des paysans, et sur une monocotylédone, le lys du Japon. Les résultats ainsi obtenus donnent une très bonne idée de ce qui se dégage d'essentiel de plusieurs centaines de dosages que nous avons effectués en même temps sur les organes d'autres plantes (2).

(1) *C. R.*, 1921, **173**, p. 333. Avec plus de détails : ces *Annales*, 1921, **35**, p. 815.
(2) Par la méthode indiquée antérieurement : *Bull. Soc. chim.*, 4e série, 1913, **9**, p. 361.

Tabac des paysans (*Nicotiana rustica L.*).

Cultivé dans le jardin du laboratoire et récolté au moment de la floraison. Les capsules et les graines ont été recueillies plus tard sur d'autres pieds

	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES	Mn EN MILLIGR. P. 100 DE		
			matière fraîche	matière sèche	CENDRES
Racines	19,70	2,20	0,55	2,82	25,2
Tige : Ecorce 1/3 inférieur	7,69	1,84	0,28	3,64	15,2
— Bois —	19,00	1,35	0,07	0,39	5,4
— Ecorce 1/3 moyen	9,16	1,88	0,22	2,41	11,7
— Bois —	9,83	1,27	0,06	0,62	4,8
— Ecorce 1/3 supérieur	11,27	1,75	0,34	3,10	19,9
— Bois —	8,66	0,87	0,05	0,64	6,4
Rameaux	8,67	1,48	0,25	2,95	17,3
Feuille n° 1 (la plus vieille)	6,36	2,25	0,55	8,60	24,3
— n° 5 (du milieu)	6,70	1,76	0,52	7,80	25,9
— n° 10 (la plus jeune)	10,21	1,80	0,87	8,55	48,4
Fleur : Calice	12,70	2,04	0,87	6,87	42,7
— Corolles	10,00	0,92	0,21	2,18	23,5
— Ovaires et pistils	14,32	1,80	0,49	3,41	27,3
— Etamines	18,42	1,88	0,76	4,17	40,9
— Pédoncules	13,04	2,19	0,55	4,20	25,0
Fruits : Capsules	79,42	9,30	4,07	5,15	43,9
— Graines	86,66	3,85	4,91	5,65	127,7

Lys du Japon (*Lilium lancefolium rubrum*).

Tous les dosages ont été effectués sur les organes réunis de deux pieds récoltés au moment de la floraison.

	MATIÈRE SÈCHE	CENDRE	Mn EN MILLIGR. P. 100 DE		
			matière fraîche	matière sèche	CENDRES
Racines	7,83	1,02	0,18	2,32	17,8
Bulbe	20,65	0,93	0,22	1,08	24,5
Tige : Partie enterrée	11,89	0,78	0,11	0,91	13,1
— Partie aérienne (1/3 inf.)	14,55	0,77	0,07	0,48	9,1
— — (1/3 moy.)	18,10	0,82	0,04	0,24	5,4
— — (1/3 sup.)	18,34	1,06	0,07	0,40	7,0
Feuilles, ensemble	12,66	1,46	0,37	2,90	25,1
Fleurs : Périanthes	9,66	0,85	0,15	1,59	18,1
— Ovaires	12,75	1,67	0,39	3,04	23,2
— Styles et stigmates	11,47	1,93	0,25	2,13	12,6
— Anthères	25,38	2,32	0,46	1,81	19,8
— Filets	7,84	0,90	0,04	0,57	4,8
— Pédoncules	16,63	1,35	0,16	0,95	11,7

Ces résultats, portant sur les organes les plus divers et dont plusieurs n'avaient pas encore été examinés, confirment, tout d'abord, la conclusion générale que nous avons rappelée au commencement de cette note. Ils mettent en évidence, ensuite, une localisation intéressante du manganèse : c'est dans les organes où les transformations chimiques sont le plus intenses que se trouvent les plus fortes proportions du métal. Pichard avait fait observer en 1898 que le « manganèse paraît se concentrer dans les parties de la plante en activité végétative, dans les feuilles, les jeunes pousses (1) » et, plus récemment, Jadin et Astruc avaient déduit de leurs recherches que « les organes chlorophylliens paraissent, dans un végétal, être plus riches en manganèse que les parties souterraines (2) ». Les résultats que nous venons de présenter montrent que les organes reproducteurs, où les phénomènes d'échanges sont très intenses, se placent à côté des feuilles, des jeunes pousses et, d'une manière générale, des organes chlorophylliens.

Au contraire, le bois, dont le rôle est plutôt passif, est remarquablement pauvre.

Enfin les graines renferment une provision élevée de métal, destinée, sans doute, à subvenir plus tard aux premiers besoins de la jeune plante.

(1) *C. R.*, **126**, p. 1882.
(2) *Journ. Pharm. Chim.*, 7e série, 1913, **7**, p. 155.

IMMUNITÉ CELLULAIRE ET HUMORALE CHEZ LA CHENILLE

(TROISIÈME MÉMOIRE)

par S. METALNIKOW et H. GASCHEN.

(Avec la planche III).

PHÉNOMÈNE DE PFEIFFER ET BACTÉRIOLYSE CHEZ LES CHENILLES

Dans les nombreuses expériences que nous avons faites jusqu'à présent sur l'immunité des chenilles de *Galleria*, nous avons eu affaire à des microbes qui sont très facilement englobés et digérés par les phagocytes. C'est pourquoi il était possible d'affirmer que l'immunité naturelle et acquise est une immunité purement cellulaire. C'est une règle générale qui souffre cependant des exceptions. L'année passée, en faisant des expériences sur le choléra et la dysenterie nous avons vu plusieurs fois, chez les chenilles immunisées contre cette maladie, une vraie bactériolyse, véritable phénomène de Pfeiffer.

Ce phénomène a été décrit par Paillot (1) chez les chenilles adultes de Noctuelles inoculées avec *B. melolonthæ non liquefaciens*. D'après cet auteur, le principal rôle de défense dans l'organisme de ces chenilles est joué par une bactériolyse. La phagocytose ne joue ici qu'un rôle très secondaire. Vu le très grand intérêt que présentent tous ces faits pour l'étude de l'immunité chez les invertébrés, nous avons repris ces expériences.

Comme point de départ nous avons pris le vibrion cholérique et les bacilles dysentériques qui se bactériolysent, comme on sait, très facilement.

Le Dr Legroux nous a aimablement fourni différentes cultures

(1) *C. R. Ac. Sc.*, 1919, p. 1122 et 1921, p. 397.

de vibrions cholériques et de bacilles dysentériques de la collection de l'Institut Pasteur. Nous nous faisons un plaisir de le remercier pour son aimable concours.

Parmi les différentes cultures que nous avons essayées, deux étaient particulièrement virulentes pour les chenilles, ce sont : la culture Pot et la culture Slow. Injectées, même à dose très minime, elles donnaient toujours une maladie mortelle.

Expérience 399. — Cinq chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion très faible (une-deux anses pour 1 cent. cube d'eau physiologique) d'une culture Show de vingt-quatre heures.

Dix-vingt heures après toutes les chenilles sont mortes.

Pendant toute la durée de l'expérience les chenilles sont maintenues à la température de 37°. Le sang est examiné une demi-heure après l'inoculation, puis d'heure en heure jusqu'à vingt-quatre heures.

Pendant les premières heures qui suivent l'inoculation, on ne trouve pas de vibrions dans le sang. De la deuxième à la troisième heure, les vibrions apparaissent rapidement et en grande quantité. Les vibrions sont devenus plus vigoureux, plus robustes et se colorent très intensément. On pourrait supposer qu'il se produit une nouvelle race de vibrions bien adaptée à l'organisme de la chenille. La multiplication des vibrions devient de plus en plus rapide. A partir de la quatrième heure, tout le sang est rempli par des masses de vibrions. La phagocytose fait alors défaut. Le nombre des leucocytes et des phagocytes diminue rapidement. Quelques rares leucocytes vacuolisés et déformés sont entourés par des amas de vibrions. A partir de la huitième-dixième heure les chenilles sont fortement malades. Elles deviennent brun-noir, se déplacent très lentement et meurent de septicémie. Si on injecte des quantités plus fortes de vibrions virulents, l'évolution de la maladie est encore plus rapide et les chenilles meurent en cinq-sept heures avec les mêmes symptômes de septicémie.

L'évolution de la maladie est tout autre si la chenille est contaminée avec des cultures peu virulentes.

Parmi les différentes cultures de vibrions cholériques que nous avons essayées, ce sont les cultures Salimbeni qui se sont montrées les moins virulentes pour les chenilles. Il fallait injecter des doses très considérables pour provoquer une maladie mortelle.

Expérience 400. — Cinq chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion très épaisse de choléra Salimbeni sur gélose de vingt-quatre heures (trois-quatre gouttes d'une émulsion mise dans 1 cent. cube d'eau physiologique). Vingt-quatre heures après l'injection, toutes les chenilles sont mortes. Les doses moins fortes ne déterminent pas de maladie mortelle.

En examinant le sang des chenilles infectées, nous avons pu constater que la réaction phagocytaire commence aussitôt après l'introduction des vibrions. Mais elle est très faible au commencement et la plus grande partie des vibrions reste libre, extracellulaire.

Dès la deuxième heure on observe un commencement d'altération des vibrions, tout au moins d'une partie d'entre eux. Les vibrions sont transformés en granules très typiques. C'est le phénomène de Pfeiffer observé sur les cobayes immunisés contre le choléra et inoculés dans le péritoine avec le vibrion cholérique. Avec le temps la bactériolyse devient de plus en plus intense. Vers la sixième-huitième heure, l'aspect du sang sur frottis est le suivant :

Rares vibrions intacts; une grande quantité des granules surtout au voisinage des leucocytes et phagocytes; proportion assez élevée des phagocytes vacuolisés, déformés et en stade de phagolyse. Vers la dixième-douzième heure on ne trouve plus dans le sang de vibrions intacts. Tous les vibrions sont bactériolysés et digérés par les phagocytes. Sur les coupes, on voit quelques agglomérations de phagocytes et des capsules typiques remplies des débris de ces microbes, pigmentés en brun-noir.

Mais la chenille n'est pas sauvée, et après la destruction complète des masses de vibrions injectés elle devient de plus en plus malade et meurt une ou deux heures après.

Nous supposons que la chenille meurt d'une intoxication produite par les endotoxines qui se dégagent après la bactériolyse des vibrions.

Ainsi nous pouvons dire que l'évolution de la maladie chez la chenille dépend de la virulence et de la quantité de vibrions injectés.

Les vibrions très virulents, injectés même à dose minime, s'adaptent facilement aux humeurs de la chenille et produisent une septicémie mortelle.

Les vibrions peu virulents, au contraire, sont très vite digérés et bactériolysés s'ils sont injectés en petite quantité. Si la dose injectée est plus considérable, la chenille parvient bientôt à détruire tous les vibrions; elle meurt cependant intoxiquée, mais aseptiquement. La chenille succombe à l'infection au moment même où elle était sur le point d'être entièrement débarrassée des vibrions injectés dans son corps. Il a toujours été affirmé et on croit généralement que, chez les animaux qui meurent à la suite d'une infection aiguë, la phagocytose ne joue aucun rôle.

Nous avons vu, au contraire, que dans toutes les infections aiguës et mortelles, ainsi que dans le choléra, la phagocytose entre en jeu. A côté de la bactériolyse, se voit toujours la phagocytose. Les vibrions sont englobés par les phagocytes et très vite digérés. Mais à partir de la quatrième-cinquième heure, on trouve très peu de vrais phagocytes dans le sang. La

plus grande partie des phagocytes et leucocytes est attirée vers les organes internes, surtout dans la région du cœur où il se forme des agglomérations et des capsules. C'est ici que se produit la destruction en masse des microbes englobés et la transformation de ces microbes en un pigment brun-noir. On peut dire que ces agglomérations et ces capsules jouent le rôle de la rate et des glandes lymphatiques des animaux supérieurs.

Comme la rate et les glandes lymphatiques, ces agglomérations et ces capsules fixent les microbes et les isolent du sang et des autres organes internes en les détruisant et en les digérant.

Le tableau bactériologique qu'on observe chez les chenilles inoculées par le choléra mortel est analogue à celui qu'on obtient chez les animaux supérieurs.

D'après les recherches récentes de G. Sanarelli, l'injection d'une dose mortelle de vibrions dans le péritoine du cobaye a tout d'abord, comme effet immédiat, la soudaine et abondante irruption des vibrions dans le torrent circulatoire. Mais cette vibriocémie ne dure pas longtemps. Déjà, à partir de la deuxième ou troisième heure, le nombre des vibrions dans le sang diminue rapidement jusqu'à devenir excessivement petit ou à disparaître entièrement de la douzième heure jusqu'à la mort.

Les propriétés bactéricides acquises par le milieu péritonéal, bien que capables de déterminer la transformation granulaire en masse des vibrions, n'arrêtent ni leur exode vers le sang ni leur faculté germinative. Après trois heures, toute activité phagocytaire est éteinte, tandis que la transformation granulaire extracellulaire des vibrions augmente de plus en plus jusqu'à devenir totale.

En effet, au bout de six heures, on ne rencontre plus que des granulations libres.

Cependant cette épuration microbienne progressive, accomplie par les phagocytes et la bactériolysine chez les cobayes ayant reçu des doses mortelles de vibrions, n'a pas d'action sur l'issue finale de la maladie. Ils meurent avec une rapidité plus ou moins grande; ni la marche du processus péritonéal ni le succès plus ou moins décisif obtenu localement par l'afflux tardif des phagocytes n'ont aucune influence.

On a beaucoup discuté sur la nature et l'origine de ces anticorps bactériolytiques. Pfeiffer (1), dans ses travaux sur l'immunité, rejette l'idée de Metchnikoff qui affirmait que les bactériolysines sont d'origine leucocytaire. Il fait appel à une sécrétion endothéliale. Dans un travail postérieur (2) accompli en collaboration avec Marx, il renonce à cette hypothèse et se range du côté de ceux qui mettent en cause les organes hématopoïétiques.

D'un autre côté, toute une série de travaux exécutés à l'Institut Pasteur par Metchnikoff (3), Bordet (4), Mesnil (5), Salimbeni (6), Cantacuzène (7), etc., ont démontré la nécessité de l'intervention des leucocytes dans la production du phénomène de Pfeiffer.

Des expériences et observations que nous venons d'exposer, nous pouvons tirer les conclusions suivantes relativement à l'évolution du choléra chez les chenilles inoculées avec des doses diverses de vibrions :

Si la dose employée est très faible, au bout de quinze-vingt-quatre heures la chenille redevient normale. Tous les microbes sont englobés et digérés par les phagocytes et par les capsules.

La dose minima mortelle varie, on le sait, avec les espèces de vibrions. Si les vibrions sont très virulents, ils s'adaptent très facitement aux humeurs de la chenille et provoquent une septicémie. Les vibrions ne sont ni bactériolysés, ni phagocytés.

Au contraire, les vibrions peu virulents donnent une maladie mortelle au cas où ils sont injectés en grande quantité. Ils sont cependant phagocytés et transformés en granules.

La transformation sphérulaire extracellulaire des vibrions est due à des substances bactériolytiques qui apparaissent dans le sang. Après deux-quatre heures tous les vibrions sont ordinairement transformés en granulations et bactériolysés. Cette bactériolyse est toujours accompagnée d'une leucolyse plus

(1) *Zeit f. Hygiene*, 1894.
(2) *Zeit. f. Hygiene*, 1898.
(3) *Ces Annales*, 1895.
(4) *Ces Annales*, 1895.
(5) *Ces Annales*, 1896.
(6) *Ces Annales*, 1898.
(7) *Ces Annales*, 1898.

ou moins intense. Mais la bactériolyse ne sauve pas la chenille qui devient de plus en plus malade et meurt en quelques heures.

Nous avons fait les mêmes expériences avec un autre microbe très facilement bactériolysable : le bacille dysentérique de Shiga.

Ce bacille est très virulent pour les chenilles.

Si la dose en est faible, la chenille résiste bien et redevient normale en quinze-vingt-quatre heures.

Au contraire, lorsque cette dose est forte (1/80-1/40 cent. cube d'une émulsion épaisse), la chenille devient de plus en plus malade et meurt de septicémie en quinze-vingt-quatre heures.

Les bacilles dysentériques peu virulents donnent une maladie mortelle s'ils sont injectés à forte dose (1/40-1/20 cent. cube d'une émulsion épaisse). Dès la deuxième-quatrième heure, on observe un commencement d'altération des bacilles et leur transformation en gros granules.

Vers la huitième-douzième heure, on ne trouve plus de bacille intact. Mais la chenille n'est pas sauvée. Elle devient très malade et meurt le lendemain. Comme dans le choléra, le bacille dysentérique donne deux maladies différentes.

La culture très virulente provoque une septicémie mortelle.

La culture peu virulente provoque une intoxication mortelle au cas où elle est injectée en grande quantité. Cette intoxication est toujours accompagnée d'une bactériolyse, d'une leucolyse et d'une destruction cellulaire.

Le fait qui peut sembler curieux dans cette expérience est que la bactériolyse complète des microbes ne sauve pas l'animal. Cela semble indiquer que la bactériolyse seule n'est pas capable de protéger l'organisme contre les microbes et leurs toxines. Les leucocytes et phagocytes sont tout à fait indispensables.

La phagocytose joue ici, comme dans tous les autres cas d'immunité naturelle et acquise, le rôle principal ; ce n'est pas une manifestation secondaire et collatérale comme le pense Paillot (1). Ce sont les leucocytes qui, par la diffusion de leurs

(1) *C. R. Ac. Sc.*, 1919, **169**, p. 1122.

ferments intracellulaires, transforment les vibrions en granules et les digèrent. C'est grâce à la voracité des phagocytes que les microbes sont englobés et digérés. C'est grâce à l'activité des leucocytes que de grandes masses de microbes sont fixées et enfermées dans des capsules où elles sont digérées et transformées en un pigment brun-noir.

Si les phagocytes sont détruits et leur action paralysée par les toxines ou endotoxines, l'animal meurt même dans le cas où tous les microbes sont transformés en granules et bactériolysés.

L'IMMUNITÉ ACQUISE

Comme nous l'avons déjà démontré dans des publications précédentes (1), les chenilles de la mite des abeilles sont très facilement immunisées contre différents microbes. Les premières expériences furent faites avec le *B. perfringens*, des pneumocoques, des bacilles dysentériques et typhiques. On réussit plus facilement avec les microbes du groupe B. (Ces *Annales*, 34), c'est-à-dire avec des microbes d'une virulence moyenne.

Mais les chenilles s'immunisent aussi très rapidement contre les microbes les plus dangereux (groupe C) tels que *Proteus*, *B. coli*, vibrions cholériques, etc. On peut déterminer l'immunisation par des méthodes variées par l'injection : 1° d'une vieille culture atténuée; 2° d'une culture virulente chauffée à 58° ; 3° de doses très minimes de cultures jeunes virulentes. Une nouvelle inoculation, faite vingt-quatre heures ou plusieurs jours après la première avec une émulsion de microbes virulents, ne détermine plus de maladie mortelle.

De nombreuses expériences nous ont démontré que les chenilles sont très sensibles aux variations de virulence des différentes races de cultures de la même espèce microbienne. Les cultures anciennes, les cultures de microbes qui ont vécu longtemps sans passage sur les milieux artificiels, perdent complètement leur virulence pour les chenilles. J'ai étudié à ce point de vue les différentes races de *Proteus* et de *Subtilis* qui

(1) *C. R. Soc. de Biol.*, 83. Ces *Annales*, 35.

sont ordinairement excessivement virulents pour les chenilles. Parmi ces races, j'en ai trouvé quelques-unes qui tuaient la chenille en 4-7 heures; d'autres étaient d'une virulence moyenne, et enfin il y avait des races qui étaient tout à fait inoffensives.

Voilà pourquoi, avant de commencer des expériences sur l'immunisation des chenilles, il est nécessaire de connaître exactement la virulence des cultures employées.

Pour déterminer la virulence des cultures, on prend une culture de vingt-quatre heures sur gélose; on ajoute 1 cent. cube d'eau physiologique et, en râclant la couche des microbes, on prépare ainsi une émulsion assez fine.

On prend ensuite 5 tubes à essai avec 1/2 cent. cube d'eau physiologique et on y ajoute 1, 2, 3, etc., anses de l'émulsion préparée. Si la culture est très peu virulente, on ajoute dans les tubes, non des anses, mais des gouttes.

Ainsi préparées, les émulsions diluées sont injectées aux chenilles. Par cette méthode, nous pouvons très facilement trouver la dose minima mortelle pour la chenille et commencer nos études sur l'immunisation.

Comme exemple, nous donnons ici plusieurs expériences faites avec différents microbes :

Expérience 310.

I. — 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion de *B. coli* n° 3 (c'est-à-dire 3 anses dans 1/2 cent. cube d'eau physiologique).

Trois jours après, les mêmes chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion n° 5 (5 anses dans 1/2 cent. cube d'eau physiologique. Dose minima).

24-48 heures après l'injection toutes les chenilles sont vivantes.

II. — *Contrôle.* — 5 chenilles normales non immunisées reçoivent la même dose mortelle de culture virulente.

15-24 heures après l'injection, toutes les chenilles sont mortes.

Expérience 290.

I. — 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion de B. dysentérique Shiga provenant de vieilles cultures (émulsion de V gouttes dans 1/2 cent. cube d'eau physiologique). Toutes les chenilles sont vivantes.

Deux jours après les mêmes chenilles reçoivent une dose mortelle 1/80 de cent. cube d'une émulsion n° 3 (cultures jeunes de vingt-quatre heures sur gélose).

24-48 heures après cette injection 4 chenilles sont vivantes; 1 est morte.

II. — *Contrôle.* — 5 chenilles témoins reçoivent la même dose mortelle 1/80 de cent. cube d'une émulsion n° 3 (culture jeune sur gélose). 20-24 heures après l'injection toutes les chenilles sont mortes.

Expérience 317.

I. — Le 3 janvier 1921, 6 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une culture de cinq jours de *B. coli* (émulsion n° 1).
Le 4, les mêmes chenilles reçurent 1/80 de cent. cube d'une culture de trois jours (émulsion n° 2).
Le 6, les mêmes chenilles reçoivent une dose mortelle 1/80 de cent. cube d'une culture de vingt-quatre heures (émulsion n° 3).
24-48 heures après cette injection toutes les chenilles sont vivantes.

II. — *Contrôle.* — 6 chenilles témoins reçoivent la même dose mortelle de *B. coli* (culture de vingt-quatre heures).
Vingt-quatre heures après toutes les chenilles sont mortes.

Expérience 337.

I. — Le 8 février 1921, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une culture de Choléra chauffé à 58° (une heure).
Le lendemain les mêmes chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une culture jeune du Choléra Pot.
Après 24-48 heures toutes les chenilles sont vivantes.

II. — *Contrôle.* — 5 chenilles témoins reçoivent la même dose du Choléra Pot.
Vingt-quatre heures après, toutes sont mortes.

III. — Le 8 février 1921, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une culture de Choléra chauffé à 100°.
Le lendemain elles subissent une injection d'une dose mortelle de Choléra Pot.
Vingt-quatre heures après, 3 chenilles sont vivantes, 2 sont mortes.
Quarante-huit heures après, toutes les chenilles sont mortes.

Expérience 403.

I. — Le 1er juin, 3 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une culture de Choléra chauffée à 58°.
Le 2, 3 chenilles reçoivent 1/40 de cent. cube d'une culture de Choléra chauffée à 58°.
Le 10, les mêmes chenilles sont infectées par une dose mortelle du Choléra Sal.
24-48 heures après : 2 vivantes, 1 morte.

II. — *Contrôle.* — 5 chenilles témoins reçoivent la même dose de Choléra Sal.
Vingt-quatre heures après : 1 vivante, 4 mortes.

Expérience 408.

I. — Le 26 mai, 10 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une culture de Choléra Sal. chauffé à 58°.
Le 28, les mêmes chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion de vibrions cholériques vivants (faible dose).

Le 15 avril, toutes ces chenilles se transforment en papillons.
Le 20, 5 papillons reçoivent une dose minima mortelle de Choléra vivant.
Vingt-quatre heures après cette injection : 4 papillons sont vivants, 1 est mort.

II. — *Contrôle.* — 5 papillons normaux, non immunisés, reçoivent la même dose de Choléra vivant.
Vingt-quatre heures après, tous les papillons sont morts.

Expérience 410.

I. — 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra chauffé à 58°.
Le lendemain elles reçoivent une dose mortelle de Choléra vivant.
24-48 heures après cette injection toutes les chenilles sont vivantes.

II. — *Contrôle.* — 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de culture de Choléra chauffé à 58°.
Le lendemain elles reçoivent une dose mortelle du bacille dysentérique Shiga.
Vingt-quatre heures après cette injection, toutes sont mortes.

De toutes ces expériences nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1° Les chenilles sont facilement immunisées envers divers microbes ;

2° L'immunisation se produit par différentes méthodes : *a*) par l'injection d'une vieille culture atténuée ; *b*) par une culture virulente chauffée à 58° ; *c*) par des doses très minimes de cultures jeunes virulentes ;

3° Les microbes chauffés à 100° ne confèrent pas l'immunité;

4° Les chenilles qui ont acquis l'immunité la conservent jusqu'à la fin de leur vie ;

5° L'immunité acquise est transmise au papillon ;

6° L'immunité acquise est spécifique.

LA RAPIDITÉ D'IMMUNISATION

Un fait étonnant à remarquer dans ces expériences, c'est la rapidité avec laquelle l'immunité est acquise. Déjà 20-24 heures après l'inoculation du vaccin, la chenille est complètement immunisée contre des doses minimes mortelles.

Quelques expériences que nous avions faites l'année passée nous avaient fait croire que les chenilles peuvent quelquefois s'immuniser encore plus vite. La virulence de la culture,

surtout, joue le principal rôle. Si la culture n'est pas trop virulente, l'immunisation se fait beaucoup plus vite et plus facilement.

Pour étudier ces questions, nous avons entrepris toute une série d'expériences avec une culture très peu virulente de choléra Sal.

Pour donner une maladie mortelle à la chenille avec cette culture, il fallait injecter une forte dose (1/80 cent. cube d'une émulsion n° 3 ou n° 4 (III-IV gouttes de l'émulsion-mère dans 1/2 cent. cube d'eau physiologique).

Expérience 414.

I. — Le 29 juin, à 2 h. 45, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de choléra Sal. chauffé à 58°.

A 3 h. 15, c'est-à-dire une demi-heure après l'injection, les mêmes chenilles reçoivent une dose minima mortelle de Choléra Sal. vivant 1/80 de cent. cube d'émulsion n° 3.

Vingt-quatre heures après toutes les chenilles sont mortes.

II. — Le 29 juin, à 2 h. 42, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra Sal. chauffé à 58°.

A 3 h. 45, c'est-à-dire une heure après l'injection, ces mêmes chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléral Sal. vivant.

Vingt-quatre heures après, toutes les chenilles sont mortes.

III. — Le 29 juin à 2 h. 45, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra chauffé à 58°.

A 4 h. 45, c'est-à-dire deux heures après l'injection, elles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra vivant.

Vingt-quatre heures après, toutes les chenilles sont mortes.

IV. — Le 29 juin, à 2 h. 45, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra chauffé à 58°.

A 5 h. 15, c'est-à-dire deux heures et demie après, elles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra vivant.

Vingt-quatre heures après, 1 *chenille est vivante, les 4 autres sont mortes.*

V. — Le 29 juin, à 2 h. 45, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra chauffé à 58°.

A 5 h. 45, c'est-à-dire trois heures après l'injection, elles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra vivant.

Vingt-quatre heures après, *toutes les chenilles sont vivantes.*

VI. — Le 29 juin, à 3 heures, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra chauffé à 58°.

A 8 heures, c'est-à-dire quatre heures après l'injection, elles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra vivant.

Vingt-quatre heures après, 4 chenilles sont vivantes, 1 morte.

VII. — Le 29 juin, à 3 heures, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra chauffé à 58°.

A 8 heures, c'est-à-dire cinq heures après, elles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra vivant.

Vingt-quatre heures après, toutes les chenilles sont vivantes.

VIII. — *Contrôle.* — Le 29 juin, 5 chenilles reçoivent la même dose mortelle de Choléra vivant.

Vingt-quatre heures après cette injection, toutes les chenilles sont mortes.

Expérience 409.

I. — Le 22 juin, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion de Choléra chauffé à 58°.

Une heure et demie après, ces mêmes chenilles sont inoculées avec une dose minima mortelle de Choléra Sal. vivant.

Vingt-quatre heures après, *toutes les chenilles sont mortes.*

II. — Le 22 juin, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion de Choléra Sal. chauffée à 58°.

Trois heures après ces mêmes chenilles sont inoculées avec une dose minima mortelle de Choléra Sal. vivant.

Vingt-quatre heures après *toutes les chenilles sont vivantes.*

III. — Le 22 juin, 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion très diluée de Choléra Sal. vivant.

Trois heures après le commencement de l'immunisation ces mêmes chenilles sont infectées par une dose minima mortelle de Choléra Sal.

Vingt-quatre heures après, *toutes les chenilles sont vivantes.*

IV. — *Contrôle.* — Le 22 juin, 5 chenilles témoins qui reçoivent la même dose sont mortes en 15-24 heures.

Toutes ces expériences montrent avec certitude que les chenilles peuvent s'immuniser avec une rapidité surprenante : *trois heures après le commencement de l'immunisation, les chenilles sont bien immunisées vis-à-vis de doses sûrement mortelles.*

Nous avons répété les mêmes expériences avec des cultures très virulentes :

Expérience 356.

I. — 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion de bacille cholérique Pot. chauffée à 58°.

Trois heures et demie après, les mêmes chenilles sont infectées avec une dose minima mortelle de Choléra Pot. excessivement virulente.

Vingt-quatre heures après cette infection, toutes les chenilles sont mortes.

II. — 5 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube de Choléra Pot. chauffé à 58°.

Sept heures après le commencement de l'immunisation les mêmes chenilles sont infectées par une dose mortelle de Choléra Pot. :

Vingt-quatre heures après, *toutes les chenilles sont vivantes.*
Quarante-huit heures après, *toutes les chenilles sont mortes.*

III. — 5 chenilles de contrôle qui reçoivent la même dose meurent en 15-20 heures.

D'après ces expériences, nous pouvons dire que les chenilles s'immunisent beaucoup plus rapidement avec les cultures peu virulentes; tandis qu'avec la culture de Choléra Sal. (peu virulente), les chenilles sont immunisées en trois heures, avec la culture de Choléra Pot., au contraire, elles ne sont pas complètement immunisées après sept heures.

RÉACTION DES ÉLÉMENTS DU SANG PENDANT L'IMMUNISATION

Le sang des chenilles de *Galleria* est un liquide transparent, jaune, noircissant assez vite à l'air, à la surface duquel se forme une membrane noire. Cette propriété, commune au sang de tous les insectes, s'explique, ainsi que l'ont démontré Fürth et N. Schneider, par l'action d'un ferment oxydant spécial sur le chromogène du sang.

On trouve habituellement dans le sang des insectes plusieurs types de globules sanguins qui ont été décrits par Cuénot (1), Hollande (2), Metalnikow (3), Zotta (4). Dernièrement, Paillot (5) a fait l'étude cytologique du sang des chenilles et, avec M. Hollande, a distingué quatre à cinq espèces de différents globules sanguins :

1° Lymphocytes;
2° Proleucocytes (macronucléocytes de Paillot);
3° Leucocytes (micronucléocytes de Paillot);
4° Cellules sphéruleuses;
5° Œonocytes.

Nous avons décrit toutes ces formes dans notre premier travail sur les chenilles de *Galleria*.

Vu le rôle important des phagocytes dans l'immunité des

(1) Cuénot. *Arch. de Biol.*, **14**, et *Arch. d'Anat. micr.*, 1.
(2) Hollande. *Arch. zool. exp.*, 1911.
(3) Metalnikow. *Arch. zool. expér.*, 1918.
(4) Zotta. *C. R. Soc. Biol.*, 1921.
(5) Paillot. Ces *Annales*, 1919.

insectes, nous avons repris cette étude du sang et de ses éléments.

L'étude cytologique a été faite par la méthode employée pour le sang de l'homme.

Les frottis de sang (bien étalé) sont fixés cinq à huit minutes par le colorant May-Grünwald et colorés 2 à 20 heures par le panchrome Pappenheim dilué (II, III gouttes par centimètre cube d'eau de robinet).

Tous les éléments apparaissent ainsi très nettement différenciés : le noyau est coloré en rouge foncé, le protoplasma en bleu violet.

Nous distinguons six types différents de cellules (pl. III) :

1er type : Eléments à gros noyau et mince couche protoplasmique ressemblant aux *lymphocytes* du sang de l'homme (fig. 1).

2e type : Grands éléments à gros noyau et à protoplasma fortement colorable. Ce sont les *proleucocytes* de Hollande et les macronucléocytes de Paillot (fig. 2).

3e type : Grands éléments arrondis, à couche protoplasmique assez épaisse et colorée en bleu pâle, à noyau plus petit que celui des proleucocytes. Souvent on trouve dans ces éléments des inclusions éosinophiles. Ce sont de vrais leucocytes ou phagocytes qui englobent les microbes et les corps étrangers (fig. 3).

4e type : *Œonocytes*. Grandes cellules à protoplasma homogène (fig. 4).

5e type : *Cellules sphéruleuses*. Ce sont de grands éléments remplis de sphérules, colorables en bleu violet foncé par le panchrome. On en rencontre en assez grand nombre, surtout après des injections de microbes. Elles semblent jouer un rôle assez important dans le mécanisme de l'immunité (fig. 5).

6e type : *Cellules sphéruleuses vides*. Ce sont les mêmes cellules sphéruleuses qui ont perdu leurs sphérules. Dans cet état leur protoplasma a l'aspect vacuolaire. On trouve souvent des stades intermédiaires entre les cellules sphéruleuses typiques et les cellules qui sont à demi ou presque entièrement vides (fig. 6).

Nous avons souvent observé sur des préparations bien colorées par le panchrome la désagrégation de ces curieuses cellules (fig. 7).

Les sphérules et les vacuoles, où elles sont incluses, se séparent du noyau et se dispersent dans le sang. Si l'on prend une goutte de sang de chenille et si l'on y ajoute une quantité minime de rouge neutre, les cellules sphéruleuses se colorent en rose.

Ce qui prouve que ces sphérules ont une réaction acide bien marquée. Dans le sang normal il y a très peu de ces cellules sphéruleuses et, c'est seulement après l'injection de certains microbes qu'elles apparaissent en grande quantité.

La composition cytologique du sang varie beaucoup chez la chenille pendant l'infection. Voici le résultat de l'examen du sang de quelques chenilles infectées avec une émulsion de vibrions cholériques :

Expérience **450**. — *Composition cytologique du sang normal de 2 chenilles.*

1° Proleucocytes et lymphocytes . .	45,4 p. 100	56 p. 100
2° Leucocytes	50,4 —	42,7 —
3° Cellules sphéruleuses.	3,2 —	1,3 —
4° Cellules vides.	1 —	0 —

Expérience **451**. — *Composition cytologique du sang de la chenille après l'inoculation de 1/80 de cent. cube d'une émulsion de Choléra chauffé à 58°.*

APRÈS L'INOCULATION	10 min.	30 min.	1 h.	2 h.	5 h.	24 h.	48 h.
	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100
1° Proleucocytes et lymph.	49,3	64,5	48	84	82	80	87
2° Leucocytes	47,7	24,5	20	11	16	17	8
3° Cellules sphérulaires . .	1,9	9	4	2	2	3	5
4° Cellules vides.	1,1	2	8	3	0	0	0

Expérience **452**. — *Composition cytologique du sang de la chenille normale après l'inoculation d'une dose non mortelle de Choléra S vivant.*

APRÈS L'INOCULATION	15 min	30 min.	40 min.	2 h.	5 h.	8 h.	24 h.	48 h.
	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p 100	p. 100
1° Proleuc. et lymph.	64,5	67,4	73	11	84,4	91,8	81,5	84
2° Leucocytes. . . .	30,5	25,4	21,3	8,7	15,2	6,6	16	14
3° Cell. sphérul. . .	3,9	6,2	3,7	17,7	0,4	1,6	2,5	2
4° Cellules vides . .	1,1	0,9	2	2,6	»	»	1	»

Expérience 453. — *Composition cytologique du sang de la chenille immunisée après l'inoculation d'une émulsion de Choléra S vivant.*

APRÈS L'INOCULATION	15 min.	30 min.	40 min.	2 h.	5 h.	8 h.	24 h.	48 h.
	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100
1° Proleuc. et lymph.	68,8	68,6	44,1	75,1	79,5	93,8	76,0	81,1
2° Leucocytes. . . .	12,7	3,6	0,3	6,7	4,5	2,3	23,5	15,1
3° Cell. sphérul. . .	12,1	13,0	34,5	15,6	12,7	1,3	2,5	2,9
4° Cell. sphér. vides.	6,4	14,8	21,1	2,6	3,3	2,6	»	0,3

En comparant ces différentes formules de deux chenilles normales (expérience 450), nous voyons que le pourcentage relatif des principaux types d'éléments ne varie pas beaucoup. Nous avons toujours à peu près une moitié de lymphocytes et proleucocytes (46 p. 100, 56 p. 100) et la même quantité de leucocytes vrais ou de phagocytes. Il y a très peu de cellules sphéruleuses et cellules sphéruleuses vides. Nous obtenons un tout autre tableau aussitôt après l'inoculation de doses très faibles du virus chauffé et non chauffé (expériences 451 et 453). Le nombre des lymphocytes et des proleucocytes augmente considérablement. Trente minutes après l'inoculation, nous avons déjà 64,5 p. 100 de ces éléments et jusqu'à 84 p. 100 deux heures après l'inoculation.

En même temps on constate une diminution rapide et progressive du nombre de leucocytes vrais ou phagocytes. Trente minutes après l'inoculation, on trouve seulement 24,5 p. 100 de leucocytes au lieu de 50 p. 100 avant le commencement de l'expérience; deux heures après, cette quantité tombe jusqu'à 11 p. 100 et même 0,3 ; quatre à cinq heures après l'inoculation, la quantité de phagocytes augmente considérablement, mais peu après elle retombe de nouveau. Quelle est la cause de cette disparition des phagocytes ?

L'étude des frottis de sang et des coupes de chenilles infectées démontre avec certitude que la plus grande quantité des phagocytes est attirée vers les organes internes, surtout dans la région du cœur, où ils forment de grosses agglomérations et des cellules géantes, remplies des microbes ingérés. C'est là aussi qu'il y a la formation de capsules dont nous avons parlé dans nos premiers mémoires. Comme nous l'avons

démontré, on constate aussi la destruction des phagocytes par phagolyse, surtout après l'inoculation de microbes très virulents pour les chenilles.

Les curieux éléments, dont nous avons donné la description plus haut — les cellules sphéruleuses — jouent aussi un grand rôle dans la marche de l'infection. Même après l'injection de virus chauffé, on trouve toujours une augmentation considérable des cellules sphéruleuses. Cette augmentation est souvent brusque, trente-quarante minutes après le commencement de l'expérience. Mais elle ne dure pas longtemps. Les cellules sphéruleuses perdent assez vite leurs sphérules et se transforment en cellules vides. Souvent cette perte des sphérules est accompagnée de la destruction de la cellule (fig. 7).

Plus le virus est virulent, plus la réaction des cellules est forte. Aussi, après l'injection d'une dose de choléra vivant, le chiffre des cellules sphéruleuses est monté jusqu'à 17,8 p. 100, tandis qu'au commencement de l'expérience il y en avait seulement 3,9 (expérience 452).

C'est surtout après l'immunisation que ces variations des éléments du sang deviennent rapides (expériences 453). Le nombre de phagocytes tombe jusqu'à 0,3, quarante minutes après le commencement de l'expérience, et en même temps le chiffre des cellules sphéruleuses atteint 34,5 p. 100 pour redescendre peu à peu jusqu'à 1,3 p. 100.

Quel est le rôle de ces curieuses cellules? Sont-elles capables de produire un anticorps quelconque? Tel est le problème qui se pose et que nous ne sommes pas en état de résoudre en ce moment.

CONCLUSIONS

En résumé les résultats de notre travail sont les suivants :

1° Les chenilles de Galleria mell. sont très sensibles à l'infection des vibrions cholériques.

L'infection se produit très facilement par l'injection d'émulsions de vibrions cholériques.

L'infection ne se produit pas par ingestion.

2° Le vibrion cholérique peut provoquer chez la chenille

deux maladies différentes. Si la culture injectée est très virulente, elle donne à la chenille une septicémie mortelle.

Au contraire, la culture peu virulente, injectée en quantité suffisante, provoque une intoxication qui est toujours accompagnée par le phénomène de Pfeiffer et une bactériolyse très intense.

3° Nous avons observé les mêmes phénomènes chez les chenilles infectées par des bacilles dysentériques peu virulents et très virulents.

4° Les chenilles s'immunisent très facilement contre les vibrions cholériques et les bacilles dysentériques de Shiga.

5° La rapidité d'immunisation dépend de la virulence des cultures.

6° Les cultures peu virulentes confèrent l'immunisation en trois heures.

7° Les cultures très virulentes confèrent l'immunité en 15-24 heures.

8° L'injection de cultures vivantes et chauffées provoque chez la chenille injectée une réaction très forte de toutes les cellules libres du sang.

Le nombre des phagocytes diminue très fortement 1-2 heures après l'injection.

Au contraire le nombre des lymphocytes et proleucocytes monte progressivement jusqu'à 80-90 p. 100.

Le nombre des cellules sphéruleuses augmente aussi considérablement. Peu après, toutes ces cellules perdent leurs sphérules et se désagrègent. Tous ces faits prouvent qu'elles jouent un rôle important dans l'immunité des chenilles.

9° Après l'immunisation, toutes ces réactions cellulaires deviennent plus marquées et plus rapides. Ainsi, chez la chenille normale, la réaction phagocytaire se passe en 2-3 heures; chez la chenille immunisée, la même réaction se passe en 15-40 minutes.

Le phénomène de Pfeiffer chez la chenille normale a lieu au bout de 3-4 heures; chez la chenille immunisée le même phénomène a lieu au bout de 15-30 minutes.

La phagocytose, la formation des cellules géantes et des capsules, la digestion des microbes, tout se passe beaucoup plus vite chez les chenilles immunisées.

Ainsi nous pouvons dire que l'immunité est le résultat d'une réaction très compliquée des différentes cellules de l'organisme. Puisque ces réactions sont involontaires, on peut dire que c'est un réflexe très compliqué.

En premier lieu il y a une réaction des différents leucocytes et phagocytes. Les globules blancs sont attirés ou repoussés par le microbe et ses toxines (chimiotaxie positive ou négative); en second lieu il y a une réaction phagocytaire, c'est-à-dire l'englobement et la digestion des microbes; en troisième lieu il se passe une leucolyse et phagolyse qui mettent en liberté des ferments intracellulaires et des anticorps. Un peu plus tard, nous avons la réaction des cellules sphéruleuses qui jouent un rôle important dans l'immunité.

Puis il y a la formation des cellules géantes et des capsules. Enfin, nous avons la réaction des organes hématopoïétiques qui produisent les globules du sang.

Chez les animaux supérieurs, il y a en plus la réaction des vaisseaux et des nerfs.

Toutes ces réactions sont spécifiques pour chaque microbe injecté, c'est-à-dire que chaque microbe produit chez l'animal infecté une série de réactions bien déterminées. Ces réactions se diffèrent par l'intensité, par la durée et par la sensibilité que manifestent les différentes cellules envers l'un ou l'autre antigène.

C'est ainsi que les réactions produites par les vibrions cholériques se diffèrent de celles qui sont produites par les bacilles tuberculeux ou par le charbon.

Après l'immunisation, toutes ces réactions des cellules deviennent plus rapides, plus intenses et plus efficaces. On peut dire que toutes les cellules deviennent plus sensibles envers le microbe donné.

On peut dire que l'immunisation est la sensibilisation ou la mobilisation des différentes cellules envers des ennemis-microbes. Et ce changement de sensibilité et de réactions est la cause principale de l'immunisation et de l'immunité acquise.

(Laboratoire du professeur Mesnil, à l'Institut Pasteur.)

LÉGENDE DE LA PLANCHE III

Fig. 1. — Eléments à gros noyau et mince couche protoplasmique, ressemblant aux lymphocytes.

Fig. 2. — Proleucocytes, éléments à gros noyau et à protoplasme dense et fortement colorable.

Fig. 3. — Leucocytes ou phagocytes vrais.

Fig. 4. — OEonocytes.

Fig. 5. — Cellules sphéruleuses.

Fig. 6. — Cellules sphéruleuses vides.

Fig. 7. — La destruction des cellules sphéruleuses.

Fig. 8. — La phagolyse.

Fig. 9-10. — Vacualisation des phagocytes trois à cinq heures après l'infection.

Fig. 11. — Phagocytose chez une chenille normale cinq heures après l'injection d'une dose mortelle de Choléra Sal.

Fig. 12. — Sang d'une chenille normale une demi-heure après l'injection d'une dose mortelle de Choléra Sal.

Fig. 13. — Sang de chenille immunisée une demi-heure après l'injection de Choléra Sal. Phénomène de Pfeiffer.

LE DOSAGE COLORIMÉTRIQUE DE LA TYROSINE ET L'INDICE PHÉNOLIQUE DES PROTÉIQUES

Par Pierre THOMAS.

(Laboratoire de M. Gabriel Bertrand.)

J'ai eu déjà l'occasion, à propos du dosage du tryptophane dans les protéiques de la levure, d'étudier les méthodes colorimétriques proposées pour le dosage de cet acide aminé (1) et d'améliorer notablement le procédé indiqué par Herzfeld. J'indiquais à ce propos les grands avantages que présenteraient des méthodes colorimétriques pour le dosage de chaque acide aminé en particulier : elles exigent peu de substance, ce qui est souvent capital, et peuvent donner, entre des mains un peu exercées, des résultats d'une précision au moins aussi grande que celle des méthodes de dosage actuellement connues, basées sur la pesée de l'acide aminé isolé à l'état de pureté ou d'un dérivé caractéristique. L'idéal serait de posséder pour chaque acide aminé une méthode colorimétrique distincte : on aurait ainsi un moyen d'étude des protéiques dont la commodité et la simplicité l'emporteraient de beaucoup sur tout ce qui est actuellement en usage. Nous sommes bien loin d'en être là, comme nous allons le voir, et il est des cas où il est préférable, en attendant mieux, de renoncer à demander à la méthode colorimétrique le dosage d'un corps unique; on aura déjà d'utiles renseignements si elle nous fournit un chiffre global correspondant à un ensemble de corps de même fonction chimique contenus dans chaque molécule protéique.

*
* *

Les méthodes colorimétriques de dosage des acides aminés actuellement connues ne s'appliquent encore qu'à trois de ces

(1) P. Thomas, Présence et dosage du tryptophane dans les matières protéiques de la levure, *Bull. Soc. de Chimie biologique*, 1914, **1**, p. 67.

corps : la tyrosine (1), le tryptophane (2) et l'histidine (3). Ainsi que je l'ai indiqué plus haut, j'ai eu l'occasion de m'occuper du tryptophane ; dans le présent travail, je me suis proposé d'étudier le dosage colorimétrique de la tyrosine.

La méthode colorimétrique proposée en 1912 par Folin et Denis repose sur l'emploi d'un réactif particulier, formé d'un mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique (4). Leur mode opératoire est le suivant :

On pèse exactement une quantité déterminée de protéique séché — 1 gr. par exemple — et on procède à l'hydrolyse dans un ballon de 500 cent. cubes environ en chauffant au réfrigérant ascendant avec 25 cent. cubes d'acide chlorhydrique à 20 p. 100 pendant douze heures. On verse alors dans une fiole jaugée de 100 cent. cubes et on complète le volume avec de l'eau. Pour le dosage, on prélève exactement 1 ou 2 cent. cubes de cette dilution que l'on verse dans une fiole de 100 cent. cubes avec 5 cent. cubes du réactif de Folin et Denis. Après cinq minutes de contact, on ajoute 25 cent. cubes de solution saturée de carbonate de sodium, on mélange et on amène à 100 cent. cubes. Après dix minutes, on compare au colorimètre Duboscq avec une solution type préparée en même temps que la première au moyen d'une solution de tyrosine pure (dont on emploie, par exemple, 5 cent. cubes correspondant à 1 milligramme de tyrosine).

Cette méthode semble *a priori* simple et d'une exécution facile. En raison des applications multiples faites par les auteurs de la réaction sur laquelle elle s'appuie, on est en droit de se demander quel degré d'exactitude elle présente. D'ores et déjà, un fait attire l'attention : tous les chiffres trouvés par Folin et Denis eux-mêmes sont plus élevés que ceux qui ont été indiqués par les divers auteurs et déterminés par la méthode gravimétrique. Les différences vont de 35 à plus de 200 p. 100. Bien que un certain nombre des anciennes déterminations soient sujettes à caution en raison du fait signalé par Abderhalden et Fuchs (5), que la tyrosine peut contracter

(1) Folin et Denis, Tyrosine in Proteins as determined by a new colorimetric Method., *Journ. of. Biol. Chem.*, 1912, **12**, p. 245.

(2) P. Thomas (*loc. cit.*) et Ces *Annales*, 1920, **34**, p. 701.

(3) Weiss et Ssobolew, Ueber ein colorimetrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Histidins, *Bioch. Zeits.*, 1913, **58**, p. 119.

(4) Folin et Denis, *loc. cit.* Le réactif s'obtient en faisant dissoudre dans 750 cent. cubes d'eau 100 grammes de tungstate de sodium, 20 grammes d'acide phosphomolybdique et 50 cent. cubes d'acide phosphorique à 85 p. 100. On fait bouillir deux heures à reflux, on refroidit et on complète à un litre.

(5) Abderhalden et Fuchs, Ueber den Gehalt der Proteine an l-Tyrosin und die Genauigkeit der Bestimmung der Aminosäure. *Zeits. physiol. Chemie.*, 1913, **83**, p. 468.

une combinaison soluble avec des acides diaminés comme la lysine, ce qui diminue beaucoup le poids de tyrosine isolable directement, on ne peut admettre volontiers qu'il en soit ainsi dans tous les cas et que tous les auteurs aient pu commettre d'aussi graves fautes de technique. D'ailleurs, les savants déjà cités, Abderhalden et Fuchs, ont montré que la méthode gravimétrique permet de retrouver intégralement la tyrosine introduite dans un mélange complexe d'acides aminés, pourvu que l'on prenne certaines précautions.

La nécessité de soumettre la méthode de Folin et Denis à un contrôle serré apparaît donc nettement.

J'ai commencé par répéter, en suivant exactement les indications du mémoire de Folin et Denis, la technique de ces auteurs. Ils indiquent de comparer au colorimètre Duboscq, sous une épaisseur de 20 millimètres, la solution obtenue avec une solution type de tyrosine pure, la coloration maximum se développant dans environ dix minutes. On peut donc faire, d'après eux, la lecture après ce laps de temps. En faisant des lectures après divers temps, de dix minutes à une heure, il m'a semblé que ce point était mal défini et que le maximum de coloration n'est atteint que plus tardivement que ne le disent les auteurs; or, la vitesse avec laquelle se développe la coloration variant dans les divers liquides, on ne peut comparer que lorsque la coloration a atteint son maximum.

Pour arriver à une certitude, j'ai opéré par comparaison avec un type fixe de coloration bleue identique à celle que donne la solution de tyrosine à 1/1.000 avec le réactif de Folin et Denis et d'intensité très sensiblement égale sous l'épaisseur de 20 millimètres. Ce type coloré a été préparé par tâtonnements avec un mélange de carmin d'indigo pur et de bleu diamine 3B, rabattu par un peu d'acide picrique. On trouve ainsi, en calculant les intensités de coloration (inverses des épaisseurs), les chiffres suivants :

Temps — minutes	Intensités —	Temps — minutes	Intensités —	Temps — minutes	Intensités —
5	0,80	30	0,976	70	0,958
7,5	0,87	35	0,968	85	0,953
10	0,901	40	0,968	100	0,944
15	0,932	45	0,966	180	0,934
20	0,944	50	0,964	200	0,934
25	0,953	55	0,964		

On en conclut qu'il ne faut pas procéder à l'examen colorimétrique avant vingt-cinq à trente minutes, ni après soixante minutes, à partir du moment où a été faite l'addition de carbonate de sodium. En examinant après dix minutes, comme le recommandent les auteurs, l'erreur par rapport au maximum de coloration atteint près de 8 p. 100 par défaut.

Cette erreur, évidente, de leur technique a pour effet d'élever encore les teneurs, déjà assez peu vraisemblables, qu'elle fournit avec les divers protéiques. Mais on doit se demander si la méthode de Folin et Denis n'est pas sujette à caution pour d'autres raisons et, en particulier, si la coloration donnée par leur réactif avec les produits d'hydrolyse des protéiques est bien due uniquement à la tyrosine présente.

Dans leur travail déjà cité, Abderhalden et Fuchs ont objecté à Folin et Denis que leur réactif donne une coloration intense avec le tryptophane et l'oxytryptophane, acides aminés qui se trouvent fréquemment dans les produits d'hydrolyse des protéiques. Dans une réponse dont le ton n'est pas celui d'une discussion scientifique ordinaire, les auteurs américains paraissent mettre en doute l'existence de l'oxytryptophane et, quant au tryptophane, ils déclarent qu'ils ont supposé que cet acide aminé ne résiste pas, ou seulement très peu, au chauffage avec l'acide chlorhydrique bouillant tel qu'il est indiqué dans leur mode opératoire. Au surplus, ils n'ont, disent-ils, jamais eu de tryptophane entre les mains et n'ont, par suite, pu vérifier l'exactitude de cette supposition (1).

Cette omission est bien regrettable, car ayant soumis du tryptophane pur à l'ébullition avec de l'acide chlorhydrique pendant douze heures dans les conditions de la méthode de Folin et Denis, j'ai constaté que la solution fournit encore la plupart des réactions tryptophaniques (2) et en particulier, avec une intensité à peine affaiblie, la coloration bleue avec le réactif Folin-Denis. Je reviendrai dans un autre travail sur l'action de l'acide chlorhydrique, mais il n'en reste pas moins

(1) Folin et Denis, On the Tyrosine Content of Proteins. A Reply to Abderhalden and Fuchs. *Journ. of Biol. Chem.*, 1913, **14**, p. 457.

(2) Elle ne donne pas la coloration rouge avec l'eau de brome, cette réaction étant, en effet, empêchée par la présence d'acide chlorhydrique.

que la persistance de la réaction constitue déjà un fort argument contre l'emploi de la méthode des auteurs.

Comme on le sait, la destruction du tryptophane est beaucoup plus complète en présence d'hydrates de carbone, par exemple, et donne alors lieu à la formation de produits humiques (1). Cependant, ce cas ne doit être envisagé qu'avec certains protéiques contenant des restes hydrocarbonés ou avec des corps très impurs, mais non avec des produits bien préparés et purifiés. Par exemple, avec de la caséine préparée selon Hammarsten et de la gliadine obtenue d'après Osborne, j'ai obtenu à l'hydrolyse seulement une très faible proportion de matières humiques.

Folin et Denis ont envisagé la possibilité d'une formation de produits phénoliques pendant l'hydrolyse des protéiques et ils ont recherché la présence de tels corps dans les produits d'hydrolyse de la caséine, avec un résultat négatif. J'ai fait également cette recherche et je ne puis que corroborer ce résultat. Malheureusement, il semble que les auteurs américains n'ont pas pensé que des substances autres que des phénols puissent influer sur leur réactif; nous savons, au contraire, que beaucoup de corps agissent par leurs propriétés réductrices sur les composés molybdiques et tungstiques pour donner des colorations bleues. Dès 1909, MM. Richaud et Bidot signalaient la coloration bleue donnée par les sels ferreux avec l'acide phosphotungstique (2), mais ils pensaient que cette réaction était suffisamment spécifique pour permettre la recherche des sels ferreux. Plus récemment, A. Popescu (3) a montré qu'elle est donnée par le chlorure stanneux, l'hyposulfite de sodium, le sulfure d'ammonium, la ninhydrine (hydrate de tricétohydrindène), c'est-à-dire par des réducteurs. Folin et Denis ont eux-mêmes reconnu que leur réactif molybdo-tungstique se colore avec les phénols et aussi par l'acide urique, l'aldéhyde benzoïque, la naphtylamine. D'après eux, l'indol et ses dérivés ne

(1) Roxas, The Reaction between Amino Acids and Carbohydrates as a brobable cause of Humin Formation. *Journ. of Biol. Chem.*, 1916, **27**, p. 71.

(2) Richaud et Bidot, Sur une nouvelle réaction colorée des protosels de fer et sur quelques applications de cette réaction. *Journ. de Pharm. et Chimie*, 1909, **29**, p. 230.

(3) A. Popescu, Sur la recherche des sels de fer au minimum dans les liqueurs de l'organisme à l'aide du réactif phosphotungstique. *Bul. de Chimie* (Romania), 1916, **18**, n° 2, p. 3.

réagissent pas ; je suis cependant arrivé à un résultat opposé.

J'ai trouvé, en effet, que l'indol donne une coloration assez faible, ainsi que le diméthyl-2.3-indol ; le phényl-2-indol donne une teinte à peine sensible, mais en revanche le scatol ou méthyl-3-indol et le tryptophane (acide 3-indol-aminopropionique) donnent une réaction intense.

La question qui se pose est donc la suivante : est-on en droit, pour justifier l'emploi du réactif de Folin-Denis dans le dosage colorimétrique de la tyrosine, d'admettre d'une part qu'il ne se forme aucun produit réducteur dans l'hydrolyse chlorhydrique des protéiques, et d'autre part que lors de la présence du tryptophane dans la molécule protéique il ne se forme pas de dérivé indolique agissant sur le réactif? La réponse, de toute évidence, est négative (1).

Enfin, un dernier argument est le suivant : Folin et Denis considèrent comme improbable que des quantités appréciables d'un acide aminé encore inconnu existent dans la molécule protéique. Dans *toutes* les molécules des divers protéiques, c'est peut-être vrai, mais n'en peut-il pas exister dans certains protéiques et cela ne suffit-il pas à condamner leur méthode ?

Par exemple, lorsque l'on traite les produits d'hydrolyse des protéiques par le sulfate d'argent à chaud pour précipiter l'arginine et l'histidine d'après Kossel et Kutscher, on constate souvent, si ce n'est toujours, une réduction rapide et assez importante du sel d'argent. Celle-ci peut être due à des produits réducteurs résultant de réactions secondaires, mais peut fort bien résulter aussi de la présence de certains acides aminés phénoliques non encore signalés.

Il me semble opportun à ce sujet de penser à la dioxyphénylalanine, découverte par Guggenheim dans les enveloppes vertes du fruit de *Vicia faba*, bien que ce corps n'ait pas encore été trouvé dans les produits d'hydrolyse des protéiques.

(1) L'argumentation de Folin et Denis, dans leur réponse à Abderhalden et Fuchs, est spécieuse. D'après eux, ils ne trouvent pas un plus grand excès de tyrosine par leur méthode comparée à la méthode gravimétrique, dans le cas d'un corps riche en tryptophane comme la caséine, que dans le cas de la zéine qui n'en renferme pas. Mais nous avons montré que les résultats donnés par eux sont incertains et que leur méthode devrait donner des chiffres encore plus élevés ; d'autre part, des produits réducteurs formés dans le cas de la zéine peuvent fort bien compenser l'absence de dérivés tryptophaniques.

C'est une oxytyrosine qui possède deux oxhydriles en 1,2 et présente par suite des propriétés réductrices très énergiques. Elle colore intensément le réactif de Folin et Denis : à richesse égale, l'intensité colorante est presque double de celle qui est produite par la tyrosine. J'ai déterminé comparativement la courbe du développement de la coloration en fonction du temps avec la tyrosine et la dioxyphénylalanine (1), et j'ai constaté que ces courbes se confondent presque entièrement, ce qui revient à dire qu'avec la méthode de Folin un mélange de a parties de tyrosine avec b parties de dioxyphénylalanine donnerait le même résultat apparent que $a + 2b$ de tyrosine.

Quoi qu'il en soit, j'ai déterminé, avec une série de protéiques préparés avec le plus grand soin dans ce but, les teneurs en tyrosine calculées selon les données de Folin et Denis. Voici les résultats expérimentaux :

1° *Caséine de lait de vache*, préparée selon Hammarsten. Hydrolyse d'après Folin et Denis ; 1 cent. cube est amené à 100 cent. cubes et comparé à la solution donnée par 1 cent. cube de solution de tyrosine pure à 1/1.000 amené à 100 cent. cubes, cette dernière étant examinée sous une épaisseur de 20 millimètres au colorimètre Duboscq. Trouvé :

Après 10 minutes		Après 30 minutes		Après 3 heures	
29,6	29,60	25,7	25,75	26,0	26,15
29,5		25,7		26,2	
29,6		25,8		26,3	
29,6		25,8		6,1	

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 20}{25,75} \times 100 = 77$ milligr. 6 pour 1 gramme de caséine, soit 7,76 p. 100 de caséine.

2° *Lactalbumine de lait de vache.* Trouvé, après 30 minutes, moyenne 32,1.

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 20}{32,1} \times 100 = 62$ milligr. 3, soit 6,23 p. 100 de la lactalbumine.

3° *Fibrine du sang de porc.* Trouvé, après 30 minutes, moyenne 24,7.

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 20}{24,7} \times 100 = 80$ milligr. 9, soit 8,09 p. 100 de la fibrine.

4° *Edestine des grains de chènevis.* Trouvé, après 30 minutes, moyenne 30,65.

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 20}{30,65} \times 100 = 65$ milligr. 2, soit 6,52 p. 100 de l'édestine.

(1) Un échantillon de ce corps parfaitement pur m'a été aimablement envoyé par M. Guggenheim, que je remercie cordialement ici.

5° *Gliadine du blé.* Trouvé, après 30 minutes, moyenne 35,15 (épaisseur du type 15 millimètres).

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 15}{35,15} \times 100 = 42$ milligr. 7, soit 4,27 p. 100 de la gliadine.

6° *Gluténine du blé.* Trouvé, après 30 minutes, moyenne 33,15.

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 20}{33,15} \times 100 = 60$ milligr. 3, soit 6,03 p. 100 de la gluténine.

7° *Zéine du maïs.* Trouvé, après 30 minutes, moyenne 26,6.

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 20}{26,6} \times 100 = 75$ milligr. 2, soit 7,52 p. 100 de la zéine.

8° *Cérévisine de la levure.* Trouvé, après 30 minutes, moyenne 29,2.

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 20}{29,2} \times 100 = 68$ milligr. 5, soit 6,85 p. 100 de la cérévisine.

9° *Zymocaséine de la levure.* Trouvé, après 30 minutes, moyenne 26,4.

Quantité de tyrosine : $\frac{1 \text{ milligr.} \times 20}{26,4} \times 100 = 75$ milligr. 7, soit 7,57 p. 100 de zymocaséine.

D'une manière générale, il est difficile d'admettre que ces chiffres correspondent aux valeurs réelles du pourcentage de tyrosine présente dans les protéiques examinés. La méthode de Folin et Denis est donc, pour toutes les raisons déjà exposées, à rejeter entièrement. Il reste à voir s'il est possible de la remplacer par une méthode colorimétrique plus précise.

*
* *

J'ai pensé tout d'abord à la réaction de Denigès (1), modifiée par Mörner (2).

Cette réaction donne lieu à la formation d'une teinte vert émeraude par chauffage de la tyrosine avec l'acide sulfurique formolé. Malheureusement, elle ne se prête pas à la caractérisation de la tyrosine dans le mélange complexe des produits d'hydrolyse d'un protéique; d'autre part, la couleur verte convient mal aux dosages colorimétriques, et la réaction est assez peu sensible. Aussi ai-je abandonné cette idée et me

(1) Denigès, Nouvelle réaction colorée de la tyrosine, *C. R. Acad. Sciences*, 1900, **130**, p. 583.

(2) Mörner, Farbenreaktion des Tyrosins, *Zeit. physiol. Chemie*, 1902, **37**, p. 86.

suis-je appliqué à l'étude de la coloration rouge que donne avec la tyrosine le réactif de Millon.

C'est en 1849 que Millon a indiqué (1) son réactif des substances protéiques, obtenu en dissolvant dans certaines conditions du mercure dans l'acide nitrique, mais il n'a jamais songé à l'appliquer à la recherche de la tyrosine ni des phénols. R. Hoffmann en 1853 (2), Städeler en 1860 (3), constatent que la tyrosine donne par chauffage avec le nitrate mercurique une coloration rouge, mais c'est Lothar Meyer qui a indiqué que la réaction ne se produit qu'en présence d'acide nitreux, la tyrosine ne donnant avec l'acide nitrique et le nitrate mercurique purs qu'un précipité blanc jaunâtre, même à chaud (4). L'année suivante, en 1865, Kühne et Rudneff montrent que Millon a commis une erreur en admettant que le nitrate mercureux joue un rôle dans sa réaction des protéiques; ils indiquent que le réactif de Millon peut être employé pour faire la réaction de Hoffmann de la tyrosine, car il renferme à la fois le nitrate mercurique et l'acide nitreux nécessaires (5).

J'ajouterai que c'est seulement en 1872 que Plugge a montré l'application de cette même réaction au phénol ordinaire (6), au thymol, à l'acide salicylique, etc. Bien plus tard, il a étendu la réaction à tous les corps aromatiques possédant un groupe OH fixé sur le noyau benzénique, dont il donne une longue liste (7).

L'affirmation que la réaction de Millon des protéiques correspond aux groupes phénoliques de leurs molécules a été émise par Nasse (8), puis par Vaubel (9).

(1) E. Millon, Sur un réactif propre aux composés protéiques. *C. R. Acad. Sciences*, 1849, **28**, p. 40.

(2) R. Hoffmann, Reaktion auf Leucin und Tyrosin, *Ann. Chem. u Pharm.*, 1853, **11**, p. 123.

(3) Stadeler, Ueber das Tyrosin, *Ann. Chem. und. Pharm.*, 1860, **40**, p. 37.

(4) Lothar Meyer, Ueber die Hoffmann'sche Reaktion auf Tyrosin, *Ann. Chem. u. Pharm.*, 1864, **56**, p. 156.

(5) Kühne et Rudneff, Zur Chemie der amyloiden Gewebsentartung. *Virchow's Archiv.*, 1865, **33**, p. 71.

(6) Plugge, Eine neue Reaktion auf Carbolsäure, *Zeit. anal. Chem*, 1872, **11**, p. 173.

(7) Plugge, Salpetrige Säurehaltiges Quecksilbernitrat als Reagens auf aromatische Körper mit einer Gruppe OH am Benzolkern. *Archiv. d. Pharmacie*, 1890, **228**, p. 9.

(8) Nasse, Ueber die aromatische Gruppe im Eiweissmolekül, *Sitzungsber. Naturf. Ges. zu Halle*, mars 1879; Ueber die Verwendbarkeit des Millon, schen Reagens. *Pflüger's Archiv.*, 1901, **83**, p. 361.

(9) Vaubel, Zur Kenntniss der Millon'schen Reaktion. *Zeit. angew. Chemie*, 1900, p. 1125.

Ce point a évidemment une importance capitale : il importe en effet de savoir si la tyrosine est seule en cause dans la production de la réaction colorée, ou si d'autres corps interviennent.

On sait déjà, d'après Abderhalden et Kempe (1), que le tryptophane donne à chaud avec le réactif de Millon une coloration rouge-brun, mais il importait de savoir si le chauffage avec les acides minéraux, dans les conditions de l'hydrolyse, laisse subsister ce caractère.

J'ai fait bouillir 0 gr. 50 de tryptophane pur avec 25 cent. cubes d'acide sulfurique à 25 p. 100 en poids pendant douze heures, au réfrigérant ascendant. Le liquide, débarrassé de la presque totalité de l'acide par la baryte et filtré, donne toutes les réactions tryptophaniques, en particulier la coloration par l'eau de brome. Par le réactif de Millon, on obtient une coloration brun clair, comme avec la solution non chauffée. J'ai pu extraire de la solution bouillie avec l'acide sulfurique 93 p. 100 du tryptophane introduit.

Quant à l'oxytryptophane, qui peut accompagner le tryptophane dans un certain nombre de protéiques, il donne avec le réactif de Millon une coloration rouge, mais plus foncée que celle de la tyrosine (2). J'ajoute que la dioxyphénylalanine, qui pourrait aussi se trouver dans les produits d'hydrolyse de certains protéiques, fournit avec le réactif de Millon une coloration orangée, tirant un peu sur le rouge.

Il résulte évidemment de ces faits que, pas plus que la réaction de Folin-Denis, la réaction de Hoffmann-Millon de la tyrosine ne permet de doser colorimétriquement cet acide aminé avec exactitude dans les liquides d'hydrolyse.

La sensibilité de la réaction, avec la tyrosine, est assez grande pour donner encore une teinte rosée visible avec 1/20.000 d'acide aminé; si on opère à une concentration qui ne dépasse pas 1/1.000, on a une teinte rouge encore assez accentuée, tandis que le tryptophane (dont la proportion dans les protéiques ne paraît jamais dépasser ni même atteindre celle de la tyrosine) donne dans les mêmes conditions un trouble et une coloration jaunâtre peu visible.

On pourrait donc considérer l'erreur due à la présence du

(1) Abderhalden et Kempe, Beiträg zur Kenntnis des Tryptophans und einiger seiner Derivate. *Zeit. physiol. Chemie*, 1907, **52**, p. 207.

(2) Communication particulière du professeur Abderhalden.

tryptophane comme très faible, en restant dans des conditions de concentration convenablement choisies, mais il est possible d'éliminer pour ainsi dire complètement cette erreur en ajoutant à la solution légèrement acide des acides aminés un sel mercurique qui précipite le tryptophane sans agir sur la tyrosine (en solution suffisamment étendue) et filtrant avant d'ajouter le réactif de Millon.

S'il est possible d'écarter ainsi la cause d'erreur due à la présence du tryptophane, il n'en est pas de même dans le cas éventuel de la présence de l'oxytryptophane, ou d'un autre produit d'hydrolyse de nature phénolique non encore signalé, comme pourrait l'être, par exemple, la dioxyphénylalanine.

Dans ce cas, la détermination colorimétrique faite à l'aide du réactif de Millon donne, *exprimé en tyrosine*, *un chiffre qui représente l'ensemble des produits d'hydrolyse de nature phénolique qui correspondent au protéique étudié*. Ce chiffre, dont la détermination sera très utile pour la caractérisation des protéiques, j'ai proposé déjà, dans une publication antérieure (1), de le désigner sous le nom d'indice de Millon ou mieux d'*indice phénolique* du protéique considéré.

Je crois en effet qu'il serait du plus grand intérêt de disposer, lorsque l'on doit caractériser un protéique, d'un ensemble de caractères aussi nets que possible et d'une détermination facile. Ici, les propriétés physiques, solubilité, température de coagulation (s'il y a lieu), pouvoir rotatoire, etc., donnent des renseignements insuffisants; les méthodes chimiques, comme l'étude de la répartition de l'azote par la méthode de Hausmann, la détermination des acides aminés par le procédé de Van Slyke (cette dernière d'une réalisation assez difficile d'ailleurs), celle de la concentration en ions hydrogène au début de la précipitation par les acides (2) sont préférables. Pourquoi n'y ajouterait-on pas un certain nombre d'indices (3) convenablement choisis, tels que l'indice phénolique que je propose en

(1) P. Thomas et A. Chabas, Sur le dosage de la tyrosine et des acides aminés bibasiques dans les protéiques de la levure. *C. R. Acad. Sciences*, 1920, **170**, p. 1622.

(2) P. Thomas, *Recherches biochimiques sur les protéiques de la levure*, Paris, 1919.

(3) J'emploie le terme « indice » par analogie avec les indices qui permettent de caractériser les diverses matières grasses.

première ligne? Les avantages de cette manière de faire sont évidents : rapidité d'exécution tout d'abord, commodité ensuite et facilité de détermination avec une petite quantité de substance convenablement purifiée.

*
* *

Il ne nous reste plus qu'à préciser les conditions dans lesquelles on peut employer le réactif de Millon pour la mesure de l'indice phénolique des protéiques, tel qu'il a été défini plus haut.

Il fallait d'abord s'assurer que la coloration obtenue avec des solutions de richesse variable est d'une intensité proportionnelle à la quantité du phénol présent. Or, on constate facilement que si on chauffe le réactif de Millon préparé à la manière ordinaire, c'est-à-dire en suivant les indications du mémoire de Millon, avec une solution d'un phénol, la teinte varie avec l'intensité et la durée du chauffage. C'est ainsi qu'avec une solution de phénol ordinaire à 1/10.000 dont on emploie 10 cent. cubes pour 2 cent. cubes de réactif, si on exprime par 1 l'intensité de la coloration obtenue à la température de 30°, on n'a plus qu'une intensité moitié (exactement 0,45) si on chauffe à 100°.

Il est donc préférable d'opérer à la température ordinaire, entre 17° et 25° (1). Dans ces conditions, la proportionnalité est très convenable, si on reste entre des limites de concentration bien choisies : de 1/5.000 à 1/20.000 pour le phénol, entre 1/5.000 et 1/25.000 pour le p. crésol, au-dessous de 1/1.000 pour la tyrosine.

Des essais faits avec des concentrations variables en acide sulfurique (l'hydrolyse chlorhydrique est à rejeter parce qu'elle nécessiterait l'élimination rigoureuse de l'acide chlorhydrique avant l'addition du réactif de Millon) montrent qu'il est suffisant de traiter les protéiques par l'acide sulfurique à 25 p. 100 en poids, en faisant bouillir dix à douze heures. Le liquide

(1) Bien entendu, la coloration apparaît d'autant moins vite que la température est plus basse, mais, en général, la réaction de Millon faite à froid est préférable si l'on n'est pas pressé. Elle est toujours plus nette et plus intense.

obtenu est assez fortement coloré, aussi est-il nécessaire de le déféquer. La précipitation par la baryte entraîne une quantité notable de produits humiques, sans amener pourtant la décoloration complète ; comme d'autre part l'addition du réactif de Millon produit souvent une précipitation due pour une part à la présence du tryptophane, j'avais pensé arriver à un bon résultat en déféquant avec une solution de sulfate mercurique, telle que le réactif de Hopkins pour la précipitation du tryptophane (1). Chose intéressante, l'addition d'un excès de sel mercurique faite quelque temps avant l'addition du réactif de Millon a un résultat inattendu : dans ce cas, la coloration rouge se produit presque instantanément aussitôt que l'on verse le réactif de Millon, au lieu d'apparaître seulement après quelques minutes. De plus, le maximum d'intensité est atteint en un temps très court, mais la coloration baisse très rapidement, de sorte qu'il est difficile de saisir le maximum.

Cette action du sulfate mercurique sur la tyrosine s'exerce également sur les autres phénols ; elle est liée au mécanisme même de la réaction de Millon.

Celle-ci a lieu en effet en deux phases : d'une part, action du nitrate mercurique donnant avec le phénol une combinaison incolore ; d'autre part, formation d'un produit coloré en rouge par action de l'acide nitreux sur la combinaison incolore. Ce fait n'avait été qu'entrevu par Millon qui croyait, par erreur, que le réactif devait contenir un mélange de sels mercureux et mercuriques ; Lothar Meyer, puis Kühne et Rudneff (*loc. cit.*) ont montré que les éléments essentiels de la réaction, avec la tyrosine, sont le sel mercurique et l'acide nitreux ; plus tard, Plugge (*loc. cit.*) a confirmé ce fait dans le cas des phénols.

J'ai pu voir que le sulfate mercurique se combine également aux phénols pour donner une combinaison incolore qui, par addition d'acide nitreux, se colore instantanément en rouge : c'est une véritable réaction de Millon-Plugge, obtenue sans la présence de l'acide nitrique (2). Je reviendrai sur ce point dans un autre travail.

(1) Ce réactif est une solution de sulfate mercurique à 10 p. 100 dans l'acide sulfurique à 5 p. 100.

(2) Nasse utilise l'acétate mercurique et le nitrite de sodium, en acidulant par l'acide acétique (*Pflüger's Archiv.*, 83, p. 361).

Quoi qu'il en soit, il m'a semblé préférable de renoncer à l'emploi du sulfate mercurique. Comme le liquide d'hydrolyse débarrassé d'acide sulfurique par la baryte est encore un peu coloré en jaune et qu'il précipite légèrement par addition de réactif de Millon, je l'ai additionné de nitrate mercurique tant qu'il se fait un précipité, mais en évitant soigneusement un excès. En ajoutant alors le réactif de Millon, on a une coloration normale, augmentant peu à peu d'intensité et atteignant son maximum après environ deux heures. Lorsque le liquide ne précipitant plus par le nitrate mercurique est encore légèrement coloré en jaune, on peut le décolorer complètement en l'agitant avec un peu de bon noir animal lavé.

Voici exactement le mode opératoire que j'ai adopté :

On commence par sécher soigneusement le protéique à étudier, réduit en poudre fine, en le chauffant à 100°-105° jusqu'à poids constant, puis on en prélève exactement 2 grammes, que l'on introduit dans un matras à long col, du type employé pour les attaques Kjeldahl avec 3 c. c. 5 d'acide sulfurique concentré et pur et 21 c. c. 5 d'eau. On introduit un petit fragment de brique pour régulariser l'ébullition et on maintient celle-ci pendant douze heures, le col du ballon portant un réfrigérant de Hopkins, selon le dispositif très pratique indiqué par Folin et Denis dans leur mémoire.

Après refroidissement, on filtre dans une fiole jaugée de 100 cent. cubes à col large (ce qui facilite les opérations ultérieures) on lave les matières humiques avec le moins d'eau possible et on précipite aussi exactement que possible l'acide sulfurique par une solution chaude et concentrée d'hydrate de baryte, débarrassée de carbonate par filtration (il faut théoriquement 21 grammes d'hydrate de baryte). La présence de carbonate donnerait une mousse très gênante qu'il faut éviter. On essaie de temps à autre la réaction du liquide ; lorsque l'on est arrivé à la neutralité, on ajoute quelques gouttes de solution barytique jusqu'à faible alcalinité et on neutralise de nouveau par quelques gouttes d'acide nitrique étendu. On refroidit, on mélange, puis on ajoute encore 2 cent. cubes d'acide nitrique et assez d'eau pour compléter le volume à 100 cent. cubes. On agite bien pour mélanger, on laisse déposer et on filtre avec un entonnoir de Joulie (ou à la trompe, ou encore on centrifuge).

On recueille exactement 50 cent. cubes dans une fiole jaugée de 50-55 cent. cubes, et on précipite par la quantité juste nécessaire d'une solution de nitrate mercurique pur à 20 p. 100, ce qui élimine le tryptophane. Il importe absolument d'éviter un excès. Si, le liquide surnageant, le précipité est encore coloré, on ajoute une pincée de noir animal lavé, on complète à 55 cent. cubes, on agite et on filtre rapidement. Si on a bien opéré, le dernier liquide ne doit pas se troubler par addition de nitrate mercurique, non plus que par le nitrate de baryum. On prélève exactement 10 cent. cubes de ce liquide, que l'on mélange avec 2 cent. cubes de réactif de Millon et que l'on examine au colorimètre Duboscq après un temps convenable, en prenant la moyenne de quatre lectures.

Il faut employer de l'acide nitrique débarrassé d'acide nitreux par agitation avec un peu d'urée en poudre fine, distillé dans le vide et conservé à l'abri de la lumière. La solution de nitrate mercurique doit également être chauffée avec de l'urée et filtrée.

Il est essentiel d'opérer le dosage colorimétrique par comparaison avec une solution de tyrosine pure dans l'acide nitrique à 2 p. 100, préparée au moment de l'emploi et additionnée de réactif de Millon dans les mêmes proportions, soit 2 cent. cubes pour 10 cent. cubes de solution. On peut également, si l'on veut faire un certain nombre de dosages, préparer un type coloré, d'intensité exactement égale à celle que donne la solution de tyrosine choisie (en général, on prendra une solution à 1/1.000). On devra alors faire plusieurs lectures à divers moments, de manière à déterminer le maximum de coloration. Le mélange qui m'a servi était formé d'une solution de ponceau de xylidine avec un peu de jaune de naphtol S, dont la teinte était rabattue convenablement avec du carmin d'indigo.

Les lectures peuvent être faites sous une épaisseur de 10 millimètres, qui convient le mieux. La teinte obtenue avec les liquides d'hydrolyse est en général un peu plus violacée que celle donnée par la tyrosine pure, mais avec un peu d'habitude les lectures n'offrent pas de difficulté.

J'ai vérifié que la coloration progresse d'une manière identique dans les deux cas, en déterminant les courbes d'intensité correspondantes; ces deux courbes sont tout à fait comparables. Le maximum est en général atteint après deux heures environ (la durée varie un peu avec la température ambiante) et se maintient pendant une demi-heure.

La méthode a été contrôlée afin de vérifier si elle permet de retrouver une quantité donnée de tyrosine introduite dans le liquide d'hydrolyse.

Dans ce but, on a fait une hydrolyse de 10 grammes de gluten sec avec 10 cent. cubes d'acide sulfurique pur et 40 cent. cubes d'eau pendant quinze heures. Le liquide est filtré, le résidu noir insoluble lavé à fond et le liquide complété à 100 cent. cubes. Après mélange, on mesure deux portions de 20 cent. cubes que l'on introduit dans deux fioles de 100 cent. cubes et l'on ajoute à l'une 20 cent. cubes d'une

solution de tyrosine pure à 1/1.000, soit 20 milligrammes. On précipite alors l'acide sulfurique par la baryte dans les deux fioles, et on continue l'opération en suivant exactement la technique indiquée plus haut. On compare avec une solution de tyrosine à 1/1.000, celle-ci ayant une épaisseur de 10 millimètres. On trouve :

Liquide non additionné de tyrosine $\left\{\begin{matrix}14,2\\14,1\\14,3\\14,2\end{matrix}\right\}$ 14,2 au colorimètre.

— après addition de tyrosine. $\left\{\begin{matrix}11,3\\11,4\\11,4\\11,5\end{matrix}\right\}$ 11,4 —

Le liquide amené à 55 cent. cubes après addition de nitrate mercurique renferme pour ce volume les produits d'hydrolyse de 1 gramme de gluten; le premier liquide contient donc $\frac{10 \text{ mgr} \times 55}{14,2} = 38$ mgr 73 de tyrosine pour ce volume de 55 cent. cubes et le second, additionné de tyrosine, contient $\frac{10 \text{ mgr} \times 55}{11,4} = 48$ mgr 24 de tyrosine. La différence, soit $48,24 - 38,73 = 9$ mgr 51 représente la tyrosine retrouvée sur les 10 milligrammes introduits, soit 95 p. 100 La concordance est suffisante.

Dans une seconde expérience faite de même, mais où la quantité de tyrosine ajoutée à l'un des liquides atteint 15 milligrammes, on trouve, pour le liquide sans addition, 15,0, soit une teneur de $\frac{10 \times 55}{15} = 36$ mgr 67 et pour le liquide additionné de tyrosine 10,6, soit une teneur de $\frac{10 \times 55}{10,6} = 51$ mgr 88 de tyrosine. La quantité retrouvée atteint dans ce cas $51,88 - 36,67 = 15$ mgr 21.

On peut donc admettre qu'il n'y a pas entraînement de tyrosine dans la précipitation par la baryte, ni par le nitrate mercurique, ni par le noir, dans les conditions indiquées.

J'ai de plus vérifié, comme l'avaient fait déjà Folin et Denis, qu'il n'y a pas formation pendant l'hydrolyse de produits phénoliques entraînables par la vapeur d'eau; les essais ont porté sur la caséine et le gluten.

Dans ces conditions, les chiffres trouvés s'appliquent à peu près exclusivement à l'ensemble des produits d'hydrolyse de nature phénolique, tyrosine surtout, oxytryptophane, et éventuellement acides aminés encore inconnus. Ces chiffres sont exprimés en tyrosine. Voici les résultats de la détermination des indices phénoliques de quelques protéiques :

1° *Caséine de lait de vache.* — Comparaison avec une solution de tyrosine à 1/1.000, épaisseur 10 millimètres. Chiffres maxima trouvés après 2 h. 15 :

$$\left.\begin{array}{l}6,4\\6,7\\6,7\\6,6\end{array}\right\}\ 6,6 \text{ au calorimètre.}$$

Quantité de tyrosine $\frac{10 \times 55}{6,6} = 83$ milligr. 33 correspondant à 8,33 p. 100 de tyrosine.

L'indice phénolique de la caséine sera donc égal à 8,33.
D'autres déterminations ont donné respectivement 8,21, 8,76 et 8,46.

2° *Lactalbumine du lait de vache.* — Deux déterminations :
Dans l'une, maximum après 2 heures : Dans l'autre, après 2 h. 25 :

$$\left.\begin{array}{l}9,0\\9,1\\9,0\\8,9\end{array}\right\}\ 9,0 \qquad \left.\begin{array}{l}8,9\\8,7\\8,7\\8,7\end{array}\right\}\ 8,75$$

Tyrosine calculée : $\frac{10 \times 55}{9,0} = 61$ milligr. 11 et $\frac{10 \times 55}{8,75} = 62$ milligr. 85.

On trouve donc pour l'indice phénolique 6,11 et 6,28.

3° *Fibrine du sang de porc.* — Deux déterminations :
Maximum après 2 h. 10 : moyenne 7,4 ; maximum après 2 h. 40 : moyenne 7,15.
On en déduit respectivement pour l'indice phénolique 7,43 et 7,69.

4° *Edestine du chanvre.* — Deux déterminations :
Maximum après 2 h. 5 : moyenne 8,1 ; maximum après 2 h. 40 : moyenne 8,2.
D'où on déduit les indices phénoliques 6,79 et 6,71.

5° *Gliadine du blé.* — Deux déterminations :
Maximum après 2 h. 15 : moyenne 11,65; maximum après 2 h. 20 : moyenne 11,9.
On en déduit pour l'indice phénolique, 4,72 et 4,63.

6° *Gluténine du blé.* — Deux déterminations :
Maximum après 2 h. 10 : moyenne 10,8; maximum après 2 h. 35 : moyenne 10,9.
On trouve pour les indices phénoliques 5,09 et 5,04.

7° *Zéine du maïs.* — Une seule détermination a donné :
Maximum atteint après 2 h. 20 : moyenne 7,0.
L'indice phénolique correspondant est 7,86.

8° *Cérévisine de la levure.* — Deux déterminations :

Maximum après 2 h. 30 : moyenne 10,5 ; maximum après 2 h. 30 : moyenne 9,6.

On en déduit pour l'indice phénolique les valeurs 5,24 et 5,73. Une mesure antérieure avait donné le chiffre 5,33 (1).

9° *Zymocaséine de la levure.* — Deux déterminations :

Maximum après 2 h. 30 : moyenne 14,2 ; maximum après 2 h. 25 : moyenne 13,2.

Il en résulte les valeurs 3,87 et 4,16 pour l'indice phénolique. Une détermination faite antérieurement a donné 4,23.

Il est intéressant de comparer ces chiffres avec ceux que fournit la méthode de Folin et Denis et déterminés soit par ces auteurs, soit par moi-même. C'est ce que j'ai fait dans le tableau suivant, où sont également indiquées les valeurs trouvées à l'aide de la méthode pondérale par les différents auteurs.

PROTÉIQUES ÉTUDIÉS	MÉTHODE FOLIN-DENIS		INDICE PHÉNOLIQUE	DOSAGE PONDÉRAL	AUTEURS
	Chiffre des auteurs	Trouvé par moi-même	Moyenne	de la tyrosine.	
Caséine	6,5	7,76	8,44	4,5	E. Fischer, 1901.
Lactalbumine.	4,9	6,23	6,19	0,85 (1)	Abderhalden et Pribram, 1907.
Fibrine	»	8,09	7,56	3,5	— Voitinovici, 07.
Edestine . . .	5,2	6,52	6,75	2,1	— 1903.
Gliadine. . . .	3,3	4,27	4,67	2,4	— Samuely, 1905.
Gluténine . . .	5,8	6,03	5,06	4,25	Osborne et Clapp, 1906.
Zéine	5,5	7,52	7,86	3,6	— 1908.
Cérévisine . .	»	6,85	5,43	4,13	P. Thomas, 1920.
Zymocaséine .	»	7,57	4,09	2,85	— — .

(1) Ce chiffre qui frappe par sa faiblesse résulte probablement de ce que la technique employée lors de sa détermination, en 1907, ne tenait nul compte de la présence à côté de la tyrosine d'une grande quantité de lysine (9 p. 100), qui, ainsi que l'ont montré Abderhalden et Fuchs, doit être éliminée au préalable, quand on fait le dosage de la tyrosine par pesée.

L'examen de ce tableau suggère les remarques suivantes :

1° Tous les chiffres trouvés par moi, à l'aide de la méthode Folin-Denis, sont plus élevés que ceux indiqués par les auteurs eux-mêmes. L'écart minimum, pour la gluténine, est de

(1) Une faute d'impression m'a fait donner le chiffre de 7,33 au lieu de 5,33 dans une publication antérieure. *C. R. Acad. Sciences*, 1920, **170**, p. 1622.

4 p. 100, l'écart maximum atteignant près de 37 p. 100 pour la zéine. Le fait que tous les écarts sont dans le même sens me paraît exclure l'hypothèse d'une purification incomplète des protéiques que j'ai utilisés, d'autant plus que pour ceux d'entre eux qui ont montré le meilleur critérium de pureté — absence presque complète de produits humiques après hydrolyse chlorhydrique — les écarts sont respectivement de 19 p. 100 pour la caséine et de 29 p. 100 pour la gliadine.

2° Il semblerait au premier examen qu'il y a un certain accord entre les valeurs de l'indice phénolique et les chiffres de la méthode Folin-Denis déterminés par moi-même. Cet accord est beaucoup plus apparent que réel : si les deux chiffres correspondent à la présence des mêmes corps, tyrosine, oxytryptophane et autres substances phénoliques éventuelles, la réaction de Folin-Denis est influencée incomparablement plus que celle de Hoffmann-Millon par le tryptophane ou ses produits d'altération. D'ailleurs, pour la gluténine, la cérévisine et la zymocaséine, l'indice phénolique est nettement plus faible; pour ces deux derniers protéiques, leur richesse en tryptophane n'est sans doute pas étrangère à ce résultat.

3° Jusqu'à preuve du contraire, c'est-à-dire tant que l'on ne sera pas parvenu à isoler directement, en nature, des produits d'hydrolyse des protéiques une proportion de tyrosine correspondant aux chiffres de Folin et Denis, il est évident que, seuls, les chiffres donnés par la méthode pondérale pourront être considérés comme représentant la teneur (valeur minimum) réelle des protéiques en tyrosine.

Une observation peut encore trouver sa place ici : à la suite de ses recherches sur le dosage de la tyrosine par bromuration, Plimmer fait remarquer que, suivant le temps au bout duquel on détermine la quantité de brome absorbée, on trouve des chiffres correspondant soit à la teneur en tyrosine qui résulte de la méthode pondérale, soit à celle déterminée par Folin et Denis (1). Ceci signifie que les liquides d'hydrolyse renferment un certain nombre de produits susceptibles d'absorber le brome avec des vitesses variables. La tyrosine est probablement celui

(1) Plimmer et Eaves, The Estimation of Tyrosine in Proteins by Bromination. *Bioch. Journ.*, 1913, 7, p. 297. Voir aussi Plimmer, *The Chem. Constitution of the Proteins*, Part. I, 3e éd., London, 1917, p. 22.

qui fixe le brome le plus rapidement, de sorte que les chiffres plus élevés obtenus après un contact prolongé correspondent aux autres corps, parmi lesquels le tryptophane et ses produits d'altération sont sans doute les plus importants.

CONCLUSIONS

1° La méthode colorimétrique de Folin et Denis ne permet pas de faire le dosage de la tyrosine dans les produits d'hydrolyse des protéiques ; elle ne convient pas davantage au dosage global des corps phénoliques, car elle est influencée par la présence du tryptophane et de la plupart de ses dérivés, indol, scatol, etc, ainsi que par les substances réductrices.

2° Une méthode colorimétrique basée sur la réaction de Hoffmann-Millon de la tyrosine ne permet pas davantage un dosage de cette substance, mais elle permet de déterminer un *indice phénolique* caractérisant chaque protéique.

On peut appeler indice phénolique le chiffre (calculé en p. 100 de tyrosine) qui représente l'ensemble des produits d'hydrolyse de nature phénolique correspondant au protéique étudié.

3° Jusqu'à présent, seuls les chiffres donnés par la méthode pondérale représentent la teneur en tyrosine des protéiques. Ces chiffres auraient besoin d'être revisés, surtout pour les protéiques riches en lysine, à la lumière des recherches de Abderhalden et Fuchs qui ont montré le rôle des acides diaminés dans l'isolement de la tyrosine en nature.

DU VACCIN ANTICHOLÉRIQUE SENSIBILISÉ VIVANT

par S. MASAKI (de Tokio).

Depuis que M. Besredka (1) a publié, en 1902, le premier travail sur les vaccins sensibilisés, antipesteux, anticholérique et antityphique, son procédé a été étendu, non seulement aux virus connus, tels que les bacilles de la dysenterie [Dopter] (2), de la tuberculose [Calmette et Guérin (3), Vallée et Guinard (4), Meyer (5)], le pneumocoque [E. Lévy et Aoki (6)], etc., mais aussi aux virus inconnus, tels que ceux de la rage [Marie (7)], et de la clavelée [Bridré et Boquet (8)]. La plupart de ces vaccins présentent aujourd'hui une portée théorique et pratique considérable, à cause de leur action sûre, rapide et durable, ainsi que leur innocuité parfaite.

Parmi les vaccins que nous venons de citer, quelques-uns sont préparés avec des bacilles tués (chaleur ou produits chimiques); d'autres ont pour point de départ des virus vivants : c'est le cas des vaccins antirabique et anticlaveleux.

Pour ce qui concerne le vaccin antityphique, rappelons les travaux de Metchnikoff et Besredka (9) : ces savants, ne parvenant pas à vacciner le chimpanzé au moyen des vaccins tués, se sont adressés au virus vivant sensibilisé; comme il ressort de leurs expériences, seule l'injection de ce vaccin a été suivie de l'immunité absolue des chimpanzés.

*
* *

On sait que l'immunité est d'autant plus solide et surtout d'autant plus durable que la dose de vaccin injecté est plus

(1) A. Besredka. *C. R. Acad. Sciences*, 2 juin 1902, p. 1330. — Ces *Annales*, 1902, p. 918.
(2) Dopter. Ces *Annales*, 1909, p. 677.
(3) A. Calmette et Guérin. *C. R. Acad. Sciences*, 1910, **151**, p. 32.
(4) Vallée et Guinard. *C. R. Acad. Sciences*, 1910, **151**, p. 1141.
(5) Fr. Meyer. *Berlin. klin. Wochenschr.*, 191, p. 426.
(6) E. Lévy et Aoki. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 1910, p. 435.
(7) A. Marie. *C. R. Soc. Biol.*, 29 novembre 1902, p. 1364.
(8) J. Bridré et Boquet. Ces *Annales*, 1913, p. 797.
(9) E. Metchnikoff et A. Besredka. Ces *Annales*, 1911, p. 865.

élevée; mais on sait aussi que plus la masse de corps microbiens est grande, plus les phénomènes réactionnels sont accusés.

Pour ces raisons, le vaccin sensibilisé est celui qui offre le plus d'avantages, la sensibilisation permettant de réaliser l'atténuation du virus d'une manière la plus rationnelle.

Nous savons, d'un autre côté, que l'immunité consécutive à la vaccination par le virus vivant est plus sûre et plus durable que celle qui résulte de l'injection de virus tué.

Or, l'inoculation du vaccin-virus vivant n'est pas sans inspirer une crainte quant à la généralisation possible de l'infection, surtout lorsqu'il s'agit de germes, tels que le pneumocoque, le bacille de Shiga, le bacille de la fièvre typhoïde (1) ou le vibrion cholérique (2).

D'après les recherches récentes de M. Besredka, les bacilles de la dysenterie et de la fièvre typhoïde, inoculés dans le torrent circulatoire, ne tardent pas à disparaître du sang; de là, ils passent dans l'intestin où ils restent pendant quelques jours. Il a montré de plus, qu'alors même que ces bacilles sont introduits dans l'organisme par *inoculation sous-cutanée*, on les retrouve finalement dans l'intestin.

Pour ce qui concerne le vibrion cholérique, certains savants [Wyssokowitsch (3), Vincenzi (4), v. Behring et Nissen (5), Pfeiffer (6) et Kolle (7)] ont constaté que les vibrions inoculés à des cobayes dans le sang en disparaissent quelques heures après, par suite du pouvoir vibrionicide du sérum sanguin, si bien que l'on n'en trouve plus ultérieurement ni dans le sang, ni dans les organes.

Or, comme nous allons le démontrer ailleurs (8), le vibrion cholérique se comporte tout comme le bacille dysentérique et le bacille paratyphique dans les recherches de Besredka, c'est-à-dire qu'il est entérotrope, pour nous servir du terme de Sana-

(1) A. Besredka. Ces *Annales*, 1919, p. 301 et 557.
(2) G. Sanarelli. Ces *Annales*, 1920, p. 871.
(3) Wyssokowitsch. *Zeitschr. f. Hygiene und Infect.*, 1886, **1**, p. 26.
(4) Vincenzi. *Bolletino della R. Acad. Méd. di Roma*, 1887, **7**, p. 438.
(5) V. Behring et Nissen. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1890, **8**, p. 425, 429 et 448.
(6) Pfeiffer. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1894, **16**, p. 272.
(7) Kolle. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1894, **16**, p. 356 et 358.
(8) Voir notre article sur la vaccination anticholérique par la voie buccale devant paraître prochainement dans ces *Annales*.

relli (1) : qu'il soit inoculé par la voie endoveineuse, par la voie péritonéale ou par la voie sous-cutanée, ce germe s'élimine toujours par l'intestin, où il se multiplie et où il reste pendant quelques jours à l'état vivant. Par conséquent, en faisant usage, pour vacciner, de vibrions cholériques vivants, il y a à craindre de voir les individus ainsi traités devenir porteurs de vibrions cholériques.

Nous nous demandâmes si cet inconvénient ne saurait être évité par l'emploi du vaccin vivant *sensibilisé*?

*
* *

Avant de passer à l'exposé de nos expériences, nous allons décrire la technique de sensibilisation que nous avons adoptée.

Le sérum anticholérique, dont le titre agglutinant est élevé (1 : 6000), est dilué au quart d'eau physiologique. Nous ajoutons 4 cent. cubes de sérum ainsi dilué à un tube de culture sur gélose de vibrions vivants, âgés de vingt-quatre heures. Le mélange est porté à l'étuve ou laissé à la température du laboratoire. Le dépôt de vibrions est ensuite lavé trois fois avec de l'eau physiologique.

Examinons d'abord la vitalité de ces vibrions. Ensemençons-les, après des temps variables, sur gélose. Nous ne manquerons pas de constater que, d'une façon générale, à la suite de la sensibilisation à l'étuve à 37°, le nombre de germes qui poussent sur gélose diminue progressivement à partir de la sixième heure. Au bout de vingt-quatre heures, le nombre de germes sur gélose est diminué de moitié. Après trente-six ou quarante-huit heures de sensibilisation à l'étuve, l'ensemencement demeure souvent négatif.

Faisons remarquer que dans le cas où la sensibilisation des germes s'opère à la température du laboratoire, on trouve des vibrions par ensemencement, même au bout de quarante-huit heures; il est vrai que le nombre de colonies obtenues dans ce cas n'est pas très élevé.

Examinons maintenant la virulence des vibrions vivants, diversement sensibilisés.

(1) G. Sanarelli. Ces *Annales*, 1920, p. 871.

Nous avons éprouvé quatre échantillons de vaccin sensibilisé vivant :

1° Vaccin I a été laissé dans l'étuve pendant vingt-quatre heures ;
2° Vaccin II a été laissé dans l'étuve pendant trois heures ;
3° Vaccin III a été laissé à la température du laboratoire (15°-20°) pendant vingt-quatre heures ;
4° Vaccin IV a été laissé à la température du laboratoire pendant six heures.

Le vibrion d'origine, non sensibilisé, qui a servi dans toutes nos expériences, tuait 100 grammes de cobaye, en injection intrapéritonéale, à la dose d'un cinquantième de tube de gélose ; en injection sous-cutanée, il provoquait la mort à la dose de un vingtième de tube de culture, âgée de vingt-quatre heures.

Les quatre vaccins (I, II, III, IV) ont été injectés à des doses différentes, dans le péritoine ou sous la peau, à plusieurs séries de cobayes.

Expérience I. — 26 *avril*.

Première série : 5 cobayes (poids 420-450 grammes) reçoivent dans le péritoine le *vaccin I*, à différentes doses (2/10, 5/10 de tube, 1 tube, 1,5 et 2 tubes) ;

Deuxième série : 5 cobayes (poids 390-400 grammes) reçoivent sous la peau le *vaccin I* à différentes doses, comme ceux de la première série.

Les cobayes des deux séries ont survécu.

Expérience II. — 28 *avril*.

Première série : 5 cobayes (poids 390-410 grammes) reçoivent dans le péritoine le *vaccin II* à différentes doses (2/10, 5/10 de tube, 1 tube, 1,5 tube et 2 tubes) ;

Deuxième série : 5 cobayes (poids 390-400 grammes) reçoivent sous la peau le *vaccin II*, à différentes doses.

Parmi les cobayes de la première série (exp. II) :

Le cobaye (420 grammes) qui a reçu 2 tubes de vaccin est mort le 30 *avril* ;

Le cobaye (430 grammes) qui a reçu 1 tube 5 de vaccin est mort le 1er *mai*.

Parmi les cobayes de la deuxième série :

Le cobaye (400 grammes) qui a reçu 2 tubes de vaccin est mort le 5 *mai*.

Tous les autres cobayes ont survécu.

Expérience III. — 1er *mai*.

Première série : 5 cobayes (poids 360-380 grammes) reçoivent dans le péritoine le *vaccin III*, à différentes doses (voir plus haut) ;

Deuxième série : 5 cobayes (poids 320-400 grammes) reçoivent dans le péritoine le *vaccin IV*, à différentes doses (voir plus haut).

Parmi les cobayes de la première série (exp. III), le cobaye (380 grammes) qui a reçu 2 tubes de *vaccin III* est mort le 3 *mai*.

Parmi les cobayes de la deuxième série (exp. III) :

Le cobaye (380 grammes) qui a reçu un tube de *vaccin IV* est mort le 4 *mai*.

Le cobaye (390 grammes) qui a reçu 1 tube 5 de *vaccin IV* est mort le 4 *mai*.

Le cobaye (400 grammes) qui a reçu 2 tubes de *vaccin IV* est mort le 2 *mai*.

Les autres cobayes ont survécu.

Donc, l'atténuation de la virulence par la sensibilisation est très nette : il résulte, en effet, de nos expériences que les cobayes peuvent supporter impunément, par la voie péritonéale, une dose de *vaccin I* vingt fois supérieure et par la voie sous-cutanée dix fois supérieure à celle qui serait pour eux une dose sûrement mortelle, si les vibrions n'avaient pas été sensibilisés.

Notons, en ce qui concerne le *vaccin IV*, que l'injection d'un tube entier de culture dans le péritoine tue le cobaye, ce qui indiquerait que l'atténuation de sa virulence est deux fois plus faible que celle subie par le *vaccin I*.

La conclusion qui se dégage de l'ensemble de ces expériences est que le vaccin sensibilisé vivant est d'autant moins virulent que le temps du contact du sérum et du virus a été plus prolongé; que, d'autre part, le vaccin, sensibilisé à la température de l'étuve, est moins virulent que celui sensibilisé à la température du laboratoire.

*
* *

Il nous reste à examiner ce que devient le vaccin sensibilisé chez l'animal inoculé.

Le sort de ce vaccin diffère suivant la manière dont la sensibilisation avait été pratiquée : lorsque la sensibilisation a été intensive, c'est-à-dire lorsqu'elle a été opérée pendant plus de quarante-huit heures à l'étuve, l'ensemencement est, comme nous l'avons fait remarquer, négatif. Le sort du vaccin sensibilisé est dans ce cas celui des vaccins tués, en général, soit par la chaleur ou par les antiseptiques.

Commençons par le *vaccin I*. Comme nous l'avons vu, le cobaye qui avait reçu dans le péritoine deux tubes de ce vaccin

a survécu. (Notons, en passant, qu'il nous fut difficile de dépasser cette dose, car il aurait fallu injecter une émulsion trop concentrée de microbes.)

Prenons une série de cobayes et inoculons à chacun d'eux deux tubes de *vaccin I* dans 1 cent. cube d'eau physiologique, dans le péritoine ou dans le tissu sous-cutané. Sacrifions, après un certain temps, les animaux et cherchons, par ensemencements sur gélose ou dans de l'eau peptonée, comment les vibrions sont répartis dans les organes.

A la suite de l'inoculation intrapéritonéale, nous trouvons des vibrions vivants dans le péritoine, seulement pendant la première heure, très rarement après une heure et demie. Dans le cas de l'inoculation sous-cutanée, l'ensemencement de la sérosité sous-cutanée est souvent positif six heures après l'injection du vaccin. A l'examen microscopique de l'exsudat, on constate des amas de leucocytes à l'endroit de l'inoculation ; la plupart des leucocytes contiennent des vibrions plus ou moins déformés.

Fait important: jamais il ne nous fut donné de constater des vibrions vivants ailleurs qu'au lieu d'inoculation; que les vibrions sensibilisés (vaccin I) soient injectés dans le péritoine ou sous la peau, jamais nous n'en retrouvions ni dans le sang, ni dans aucun des viscères, ni dans l'intestin.

Ces expériences ont été faites à différents intervalles après l'inoculation, variant de quinze minutes jusqu'à deux jours. Nous avons recherché les vibrions avec beaucoup de soin, surtout après inoculations intrapéritonéales.

En voici quelques exemples :

15 *mai.* — 5 cobayes (poids 320-400 grammes) reçoivent 2 tubes de vaccin I *dans le péritoine.*

Cobaye n° 51 (380 grammes) est sacrifié une demi-heure après l'inoculation. Dans le péritoine, on trouve un liquide un peu trouble. Au microscope, on voit beaucoup de leucocytes polynucléaires, neutrophiles, renfermant des vibrions déformés. Le péritoine, la surface du foie et des intestins paraissent normaux. Le contenu de l'estomac et de l'intestin est normal ; les autres organes ne présentent rien d'anormal.

Ensemencements :

Péritoine : nombreuses colonies de vibrions.
Sang : stérile.
Bile : stérile.
Urine : stérile.
Estomac : quelques colonies blanches de bacilles.

Duodénum : stérile.
Intestin grêle à différents niveaux : stérile ou de rares colonies de *B. coli*.
Cœcum : beaucoup de colonies de *B. coli*.
Gros intestin : beaucoup de colonies de *B. coli* et de microcoques.

Cobaye n° 55 (340 grammes) est sacrifié trois heures après l'inoculation de vibrions sensibilisés vivants. Dans le péritoine, on trouve beaucoup de liquide trouble. L'aspect du liquide au microscope est le même que chez le n° 51. Le péritoine, en général, est légèrement congestionné; les autres organes paraissent normaux.

Ensemencements :
Péritoine : stérile.
Sang, urine : stériles.
Intestin grêle : quelques colonies de *B. coli*.
Gros intestin : beaucoup de colonies de *B. coli*.

Cobaye n° 56 (350 grammes) est sacrifié six heures après l'inoculation. Le liquide péritonéal est un peu plus abondant que d'ordinaire. L'état congestif du péritoine est plus appréciable que chez le cobaye n° 55.

Les résultats des ensemencements sont les mêmes que chez le cobaye n° 55.

Cobaye n° 58 (370 grammes) est sacrifié douze heures après l'inoculation. Le liquide péritonéal est peu abondant, et l'injection du péritoine est plus faible que chez les cobayes n°s 56 et 55. Mêmes résultats des ensemencements.

16 *mai*. — 5 cobayes (poids 330-390 grammes) reçoivent 2 tubes de vaccin I *sous la peau*.

Cobaye n° 61 (390 grammes) est sacrifié trois heures après l'inoculation. A l'endroit de l'inoculation, on trouve des amas de vibrions mélangés à des leucocytes; autour de ces amas, les vaisseaux sanguins sont légèrement injectés. Le péritoine, l'intestin et les autres organes ne montrent rien d'anormal.

Ensemencements :
Sérosité du tissu sous-cutané à l'endroit de l'inoculation : beaucoup de colonies de vibrions.
Péritoine, sang, bile : stériles.
Intestin grêle : quelques colonies de *B. coli*.
Gros intestin : beaucoup de colonies de *B. coli* et quelques colonies de microcoques.

Cobaye n° 62 (340 grammes) est sacrifié six heures après l'inoculation. Des amas de leucocytes et l'injection légère des vaisseaux à l'endroit de l'inoculation.

Ensemencements :
Sérosité du tissu sous-cutané : quelques colonies de vibrions.
Sang, bile : stériles.
Intestin grêle : quelques colonies de *B. coli*.
Gros intestin : beaucoup de colonies de *B. coli*.

Cobaye n° 65 (380 grammes) est sacrifié douze heures après l'inoculation. A l'autopsie, on constate le même aspect que chez le n° 62.

Ensemencements :
Sérosité sous-cutanée : stérile.

Les résultats des autres ensemencements sont les mêmes que chez le n° 62.

Cobaye n° 70 (360 grammes) est sacrifié vingt-quatre heures après l'inoculation. On ne trouve plus d'amas de leucocytes à l'endroit de l'inoculation.

Ensemencements :

Sérosité du tissu sous-cutané : stérile,

Les résultats des autres ensemencements sont les mêmes que chez le n° 62.

Donc, lorsque la sensibilisation est complète, le vaccin devient rapidement la proie des globules blancs à l'endroit de l'inoculation ; les vibrions ont beau être vivants, ils périssent toujours sur place : il n'y a jamais de généralisation.

Lors de l'inoculation intrapéritonéale du vaccin vivant sensibilisé, nous avons constaté une légère élévation de la température (38°5-39°), qui commence vers la troisième heure et dure jusqu'à la douzième heure. Cette élévation thermique ne s'observe point à la suite de l'inoculation sous-cutanée de vibrions sensibilisés.

*
* *

Passons maintenant à l'étude des vaccins qui avaient subi une sensibilisation modérée, soit qu'ils soient restés peu de temps à l'étuve, soit qu'ils aient été sensibilisés à la température du laboratoire.

Ces expériences montrent que plus la sensibilisation est faible, plus forte est la réaction thermique chez l'animal inoculé. Ainsi, l'inoculation intrapéritonéale du *vaccin IV* est suivie, au bout de six à douze heures, d'une élévation de la température, qui atteint 40°-41°. L'injection du *vaccin I* donne, dans les mêmes conditions, une température qui ne dépasse pas 38°5-39°.

L'inflammation locale et l'injection des vaisseaux sont d'autant moins prononcées que le vaccin est mieux sensibilisé. Le cobaye, qui avait reçu deux tubes de *vaccin IV* dans le péritoine, est mort. A l'autopsie, il a été constaté une inflammation péritonéale plus accusée que chez le cobaye qui avait reçu deux tubes de *vaccin I* et qui avait été sacrifié par nous (cette dose n'étant pas mortelle). Chez le cobaye ayant reçu dans le péritoine du *vaccin IV*, on trouve un amas dense de leucocytes près du foie ; quant à l'injection vasculaire, elle est beaucoup

plus faible que chez les cobayes inoculés avec des vibrions vivants, non sensibilisés.

Dans le cas de l'inoculation sous-cutanée, le vaccin, dont la sensibilisation avait été faible, reste longtemps à l'endroit de l'inoculation et forme un abcès qui ne se résorbe quelquefois qu'au bout d'une semaine.

Quel est le sort du *vaccin IV* dans l'organisme?

Inoculons deux tubes de ce vaccin dans le péritoine ou sous la peau, puis cherchons les vibrions dans différents organes.

Pour ne pas tomber dans des redites, disons de suite que les résultats des ensemencements sont presque identiques à ceux obtenus lors de l'inoculation du *vaccin I*. Les ensemencements pratiqués à l'endroit de l'inoculation soit du liquide péritonéal, soit de la sérosité sous-cutanée, donnent des cultures pendant une période plus longue que dans le cas de l'injection du vaccin fortement sensibilisé (*vaccin I*). Ainsi, après l'inoculation sous-cutanée du *vaccin IV*, nous avons trouvé des vibrions vivants, dans la sérosité sous-cutanée, encore vingt-quatre heures après.

Or les ensemencements pratiqués avec différents organes ont montré l'absence de vibrions dans le sang, dans la bile, dans le contenu de l'intestin, alors que l'on trouvait encore des vibrions vivants à l'endroit de l'inoculation.

De l'ensemble de ces expériences ayant porté sur les *vaccins I et IV*, il résulte que, dans le cas de sensibilisation faible, l'aspect de la région inoculée rappelle un peu celui que l'on observe lors de l'inoculation de virus vivant, non sensibilisé : les vibrions restent plus longtemps à l'endroit de l'inoculation et il y a formation d'abcès sous-cutané ou d'un amas de leucocytes dans la cavité péritonéale. Mais, ce qui distingue les vibrions sensibilisés des vibrions ordinaires, c'est que déjà la sensibilisation à la température du laboratoire pendant six heures est suffisante pour empêcher toute généralisation des germes, tandis que l'inoculation des vibrions ordinaires non sensibilisés est toujours suivie de l'élimination de ces derniers, à l'état vivant, par l'intestin.

*
* *

Au point de vue de l'immunité, les questions qui se posent sont les suivantes :

1° L'animal est-il vacciné par l'inoculation du vaccin vivant sensibilisé?
2° Au bout de combien de temps est-il vacciné?
3° Quelle est la durée de l'immunité?

Pour répondre à la première question, nous avons pris des cobayes qui avaient reçu, dix jours auparavant, par différentes voies, des vibrions vivants sensibilisés, et nous les avons soumis à l'épreuve par la voie péritonéale, au moyen d'une dose sûrement mortelle de vibrions vivants.

Expérience I.

8 *mai* : Cobaye n° 1 (450 grammes) a reçu le 26 *avril* 2 tubes de vaccin I dans le péritoine;
Cobaye n° 5 (450 grammes) a reçu le 26 *avril* 2/10 de tube du vaccin I dans le péritoine;
Cobaye n° 7 (430 grammes) a reçu le 26 avril 2 tubes de vaccin I sous la peau;
Cobaye n° 11 (420 grammes) a reçu le 26 avril 2/10 de tube du vaccin I sous la peau;
Cobaye n° 80 (480 grammes) sert de témoin.

Chaque cobaye reçoit, à 6 heures du soir, 1/10 de tube de culture sur gélose de vibrions vivants, âgés de vingt-quatre heures, dans le péritoine, dose trois fois plus grande que la dose mortelle minima.

9 *mai matin* : le cobaye témoin n° 80 est trouvé mort; les autres vont bien; ils ont eu une survie définitive.

11 *mai* : Cobaye n° 30 (380 grammes) a reçu le 1er *mai* 1/2 tube du vaccin IV dans le péritoine;
Cobaye n° 40 (390 grammes) a reçu le 1er *mai* 1 tube du vaccin IV sous la peau;
Cobaye n° 85 (400 grammes) sert de témoin.

Chaque cobaye reçoit 1/10 de tube de culture sur gélose de vibrions vivants, âgés de 24 heures, dans le péritoine.

12 *mai matin* : le cobaye n° 85 est trouvé mort; les autres ont survécu définitivement.

Il résulte de ces expériences que l'injection de vaccin sensibilisé sous la peau ou dans le péritoine confère aux cobayes une immunité solide contre une dose trois fois mortelle de vibrions vivants.

*
* *

Pour répondre à la deuxième question, nous nous sommes adressé d'abord au *vaccin I*, c'est-à-dire aux vibrions sensibilisés pendant vingt-quatre heures à l'étuve.

Nous avons inoculé ce vaccin à une série de cobayes dans le péritoine ou sous la peau ; puis, après trois, six, douze, vingt-quatre et quarante-huit heures, nous les avons éprouvés par une inoculation de vibrions vivants.

Pour ces expériences, nous nous sommes servi de vibrions dont la dose mortelle était de 1/30 de tube de culture sur gélose par la voie péritonéale et de 1/10 de tube par la voie sous-cutanée, pour 100 grammes de cobaye.

Expérience II.

12 *juillet* : on mélange un tube de culture de vibrions sur gélose avec 4 cent. cubes de sérum anticholérique dilué au quart et on porte le mélange à l'étuve.

13 *juillet* : on lave le vaccin trois fois avec de l'eau physiologique. A 8 heures du matin, 5 cobayes sont inoculés avec 2 tubes de ce vaccin dans le péritoine. Puis, dans la journée et les jours suivants, on procède à des inoculations d'épreuve par la voie intrapéritonéale.

Cobaye n° 90 (400 grammes) a reçu du vaccin dans le péritoine. A 11 heures du matin, il reçoit 1/4 de tube de culture de vibrion vivant;

Cobaye n° 91 (410 grammes) a reçu du vaccin dans le péritoine. A 2 heures de l'après-midi, inoculation d'épreuve;

Cobaye n° 92 (390 grammes) a reçu du vaccin dans le péritoine. A 8 heures du soir, inoculation d'épreuve;

Cobaye n° 93 (395 grammes) a reçu du vaccin dans le péritoine. 14 *juillet*, 8 heures du matin, inoculation d'épreuve;

Cobaye n° 94 (380 grammes) a reçu du vaccin dans le péritoine. 15 *juillet*, 8 heures du matin, inoculation d'épreuve;

Cobaye n° 95 (400 grammes) a reçu du vaccin dans le péritoine; témoin de la virulence du vaccin;

Cobaye n° 96 (400 grammes) reçoit le 13 *juillet*, à 8 heures du soir, 1/4 de tube de culture sur gélose de vibrions vivants; témoin de la virulence du vibrion vivant;

Cobaye n° 97 (390 grammes) reçoit le 14 *juillet*, à 8 heures du matin, 1/4 de tube de culture de vibrions vivants; témoin;

Cobaye n° 98 (390 grammes) reçoit le 15 *juillet*, à 8 heures du matin, 1/4 de tube de culture de vibrions vivants; témoin.

Sur ces 9 cobayes :

Nos 90, 91, 92, 96 sont trouvés morts le 14 *juillet* au matin.

N° 93 est mort à 6 heures du soir, le 14 *juillet*.

N° 97 est trouvé mort le 15 *juillet* au matin.

N° 98 est trouvé mort le 16 *juillet* au matin.

On peut donc conclure de ces expériences que, dans les conditions indiquées, le cobaye ne devient vacciné qu'après quarante-huit heures.

Nous avons ensuite diminué la dose de vaccin. Nous avons constaté que, lorsqu'on n'en injecte que 1/2 tube de vaccin, l'animal est vacciné dans les douze heures qui suivent l'injection. Cette dose de vaccin est quatre fois plus grande que la dose mortelle minima de vibrions vivants ordinaires, non sensibilisés.

Expérience III.

29 *juillet*, 8 heures du matin : 3 cobayes reçoivent 1/2 tube de *vaccin I* dans le péritoine; après 6, 12, 24 heures, on procède à l'inoculation d'épreuve;

Cobaye n° 100 (380 grammes) reçoit 1/2 tube de vaccin à 8 heures du matin. A 2 heures de l'après-midi, reçoit 1/4 de tube de culture de vibrions vivants;

Cobaye n° 101 (370 grammes) reçoit 1/2 tube de vaccin à 8 heures du matin; à 8 heures du soir, inoculation d'épreuve;

Cobaye n° 102 (370 grammes) reçoit 1/2 tube de vaccin à 8 heures du matin. Le lendemain 30 *juillet*, à 8 heures du matin, inoculation d'épreuve.

Cobaye n° 103 (400 grammes) reçoit l'inoculation de 1/4 de tube de culture de vibrions vivants, à 8 heures du soir; premier témoin;

Cobaye n° 104 (390 grammes) reçoit l'inoculation de 1/4 de tube de culture de vibrions vivants, le 30 juillet, à 8 heures du matin; deuxième témoin.

Sur ces 5 cobayes :

Nos 100 et 103 sont trouvés morts le 30 *juillet* au matin.

N° 104 est trouvé mort le 31 *juillet* au matin.

Cobayes nos 101 et 102 ont survécu.

Que montrent les résultats de ces deux expériences?

La dose de vaccin employé était dans l'expérience II de deux tubes, dans l'expérience III elle a été de 1/2 tube. L'immunité a apparu plus vite chez les cobayes de l'expérience III que chez ceux de l'expérience II. Par conséquent, si l'on désire obtenir une immunité rapide, il y a lieu de se servir des doses de vaccin peu élevées.

Dans le cas de vaccination sous-cutanée, l'immunité apparaît un peu plus lentement; l'animal n'est vacciné qu'après dix-huit, vingt heures, lorsque la dose de vaccin est de 1/2 tube de culture. Cette différence dans l'apparition de l'immunité doit

reposer, nous semble-t-il, sur la vitesse inégale de la résorption dans les deux cas.

La rapidité avec laquelle apparaît l'immunité dépend également de la façon dont le vaccin a été sensibilisé : l'animal se vaccine d'autant plus lentement que les vibrions avaient subi une sensibilisation plus faible. Ainsi, le *vaccin IV* ne confère l'immunité qu'après une semaine, tout comme le vaccin ordinaire non sensibilisé.

*
* *

Nous passons maintenant à la troisième question, qui est relative à la durée de l'immunité.

Prenons deux séries d'animaux : les uns ayant reçu deux tubes de *vaccin I*, les autres 1/2 tube de ce même vaccin. La dose mortelle, dans le péritoine, des vibrions qui avaient servi à la préparation de ce dernier est de 1/50 de tube de culture sur gélose, âgée de vingt-quatre heures, pour 100 grammes de cobaye. Donc, deux tubes de vaccin équivalent à 25-30 doses mortelles ; 1/2 tube de vaccin équivaut à 10-15 doses mortelles de vibrions vivants ordinaires, pour cobayes de poids moyens (300-400 grammes).

Aux cobayes de ces deux séries nous inoculons, après des intervalles variés, des doses sûrement mortelles de vibrions vivants.

Voici, en résumé, les résultats obtenus :

Les cobayes qui avaient reçu 1/2 tube de vaccin étaient immunisés pendant trois mois; ceux qui avaient reçu deux tubes de vaccin restèrent immunisés au moins pendant cinq mois.

Donc, en ce qui concerne la durée de l'immunité, le vaccin sensibilisé vivant est celui qui offre le plus d'avantages parmi les vaccins anticholériques existants, à la condition que l'on emploie des doses convenables.

CONCLUSIONS

I. — L'action du sérum anticholérique sur le vibrion, ou la sensibilisation, se traduit par un affaiblissement de sa vitalité. L'ensemencement du vibrion sensibilisé peut rester négatif, si le contact du sérum et du virus a été trop prolongé. La sensibilisation s'opère mieux à 37° qu'à la température du laboratoire.

II. — La virulence du vaccin sensibilisé vivant est d'autant plus atténuée que la durée du contact du sérum et des vibrions a été plus longue.

III. — Le virus sensibilisé vivant, qu'il soit inoculé dans le péritoine ou sous la peau, ne donne pas lieu à la généralisation : l'injection demeure localisée au niveau de l'inoculation.

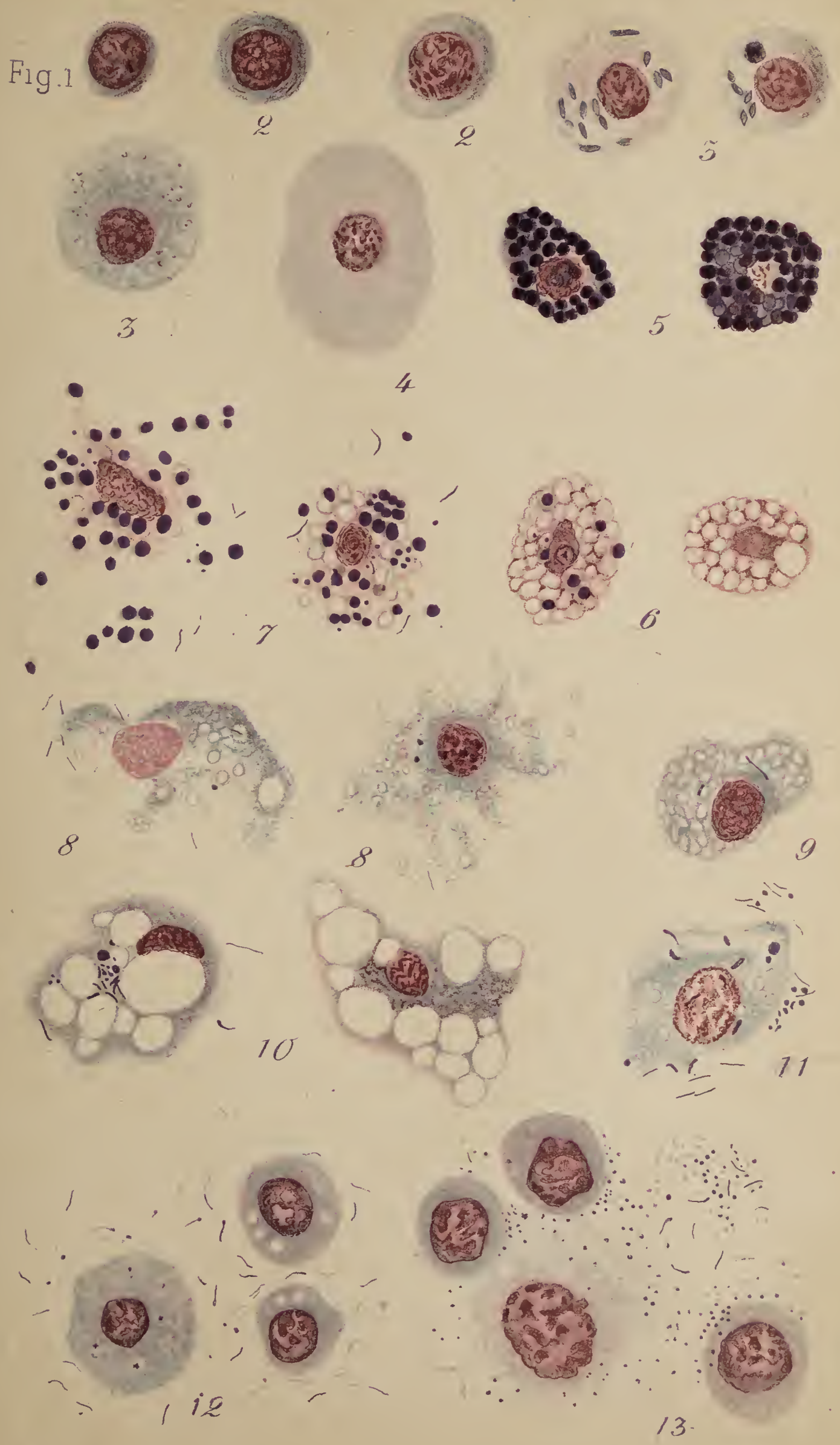
IV. — Le vaccin sensibilisé vivant anticholérique confère une immunité sûre, rapide et durable. Ce vaccin, bien que vivant, est inoffensif.

(Laboratoire du professeur Besredka.)

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

Mém. S. Metalnikow



S. Metalnikow, del.

Imp. L. Lafontaine, Paris.

36e ANNÉE AVRIL 1922 N° 4

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

L'ÉPIDÉMIE DU CHOLÉRA DANS L'ARMÉE POLONAISE EN 1920-1921

par S. MUTERMILCH.

L'épidémie de choléra, qui a fait son apparition dans l'armée polonaise en octobre 1920 et ne s'est éteinte qu'en avril 1921, s'est répandue surtout parmi les prisonniers de guerre de l'armée rouge, ne faisant que peu de victimes parmi les soldats polonais et ne touchant qu'à peine la population civile.

Cette épidémie n'a pris nulle part le caractère d'une pandémie, au contraire, elle s'est limitée à quelques foyers peu nombreux, où elle explosait avec une grande intensité, puis s'éteignait, en se transportant dans quelques cas sur une distance plus ou moins grande.

Le choléra a envahi la Pologne en venant de la Russie, où cette maladie se trouve en état endémique depuis de longues années, en augmentant d'intensité de temps en temps, ce qui est arrivé notamment plusieurs fois pendant la grande guerre.

L'avant-dernière apparition du choléra a eu lieu en Pologne en 1919, mais elle s'était limitée alors à trois cas, ayant été immédiatement enrayée.

L'épidémie a pris une tournure différente en 1920, où le choléra a fait un grand nombre de victimes et a menacé de se répandre dans la population civile. La cause de ce phéno-

mène s'explique aisément par les conditions dans lesquelles s'est trouvée l'armée polonaise en 1920 en comparaison de celles de l'année 1919. En effet, si la Pologne a passé ces deux années en guerre avec la Russie des Soviets, les conditions de l'existence de l'armée polonaise en 1920 différaient totalement de celles de l'année précédente, car le front polono-bolchevick en 1919 était assez rigide, les rencontres entre les deux armées se sont déroulées sur une distance en profondeur relativement faible, la quantité d'ennemis faits prisonniers était insignifiante, en un mot, le contact du soldat polonais avec le soldat bolchevick était limité. La guerre de 1920 avait un caractère tout à fait différent : on avait affaire dans ce cas à de grands mouvements de troupes, la vague bolchevick a inondé une grande partie de la Pologne, ensuite, sous le poids de la contre-offensive polonaise, elle s'est retirée sur une distance de plusieurs centaines de kilomètres, en laissant dans les mains des Polonais près de 100.000 prisonniers ; ces grands mouvements de troupes ont été accompagnés d'un non moins intense mouvement de fuyards civils et d'une dévastation terrible du pays à laquelle s'ajoutaient la famine et l'épuisement extrême aussi bien de l'armée que de la population civile.

Tous ces facteurs ont joué leur rôle épidémiologique ; mais le contact direct du soldat polonais avec le soldat rouge fut la raison principale de l'apparition du choléra en Pologne.

Le fait que les premiers cas de choléra en Pologne ont été constatés parmi les prisonniers de guerre, et que l'épidémie s'est répandue surtout parmi ces derniers, prouve suffisamment que là était la source de l'épidémie.

Il ne sera fait mention dans ce mémoire que des cas de choléra qui se sont produits dans la zone de l'intérieur, car nous ne possédons pas toutes les données concernant l'épidémie du front et de la zone des étapes ; un de nos collègues du G. Q. G. polonais, qui se trouve en possession de ces données, doit relater prochainement l'épidémie du choléra de l'avant qui, soit dit entre parenthèse, a fait un nombre de victimes peu élevé.

Aussitôt après avoir reçu la nouvelle des premiers cas de choléra survenus au front, l'autorité militaire centrale a tracé une ligne de démarcation à la limite de la zone des étapes et de la zone de l'intérieur où ne pouvaient passer que les personnes

vaccinées depuis cinq jours au moins et qui, en outre, étaient soumises à une surveillance de la part des médecins de place dans les localités où ces soldats et ces détachements se rendaient.

Toutefois, hélas ! cet ordre fut donné quelques jours trop tard, car pendant que la frontière était encore ouverte, un train sanitaire transportant des malades et des blessés du front est arrivé à Varsovie le 5 octobre 1920. Ce train n'étant pas considéré comme suspect de choléra, les malades ont été répartis dans deux hôpitaux militaires de Varsovie, où ils sont entrés en contact avec d'autres malades et blessés hospitalisés précédemment.

Deux jours plus tard, notamment le 7 octobre, les médecins ont constaté dans un de ces hôpitaux le premier cas de choléra chez un soldat arrivé avec ce transport, et bientôt après encore quatre cas parmi les prisonniers et les soldats malades du même convoi.

Le 12 octobre, cette fois à l'encontre de l'ordre instituant la quarantaine, un autre convoi ne comprenant que des prisonniers de guerre a été dirigé du front sur Varsovie. Il a été immédiatement arrêté, et tous les prisonniers avant leur débarquement ont été soumis à une observation rigoureuse et à la recherche des porteurs de germes, ce qui a eu pour résultat la découverte d'un prisonnier malade chez lequel l'examen bactériologique a démontré la présence des vibrions cholériques dans les selles, et d'un prisonnier porteur de germes.

Ainsi le choléra a passé du front à Varsovie et a commencé à se répandre parmi les malades et le personnel sanitaire des hôpitaux militaires de Varsovie, car les quelques jours qui s'étaient écoulés depuis l'arrivée des malades dans les hôpitaux jusqu'à l'établissement du diagnostic ont suffi à ce que les malades des lits voisins se soient infectés.

Il n'est pas impossible d'ailleurs, et il est même très vraisemblable que plusieurs convois de malades et blessés, qui étaient arrivés à Varsovie avant la constatation du choléra sur le front, aient pu contenir des personnes devenues porteurs de germes, et même que plusieurs cas de décès avec le diagnostic de dysenterie (cette maladie régnait en même temps) auraient dû être attribués au choléra non reconnu.

Les mesures les plus rigoureuses ont été prises immédiatement après avoir constaté la présence du choléra dans les hôpitaux de Varsovie.

L'isolement absolu a été ordonné; chez tous les malades ainsi que chez le personnel sanitaire des hôpitaux on a recherché les porteurs de germes; tous ont été vaccinés contre le choléra. Ensuite, un des hôpitaux a été désigné pour recevoir les malades cholériques, les porteurs de germes et les cas suspects de choléra.

Les ordres des autorités sanitaires centrales ont été exécutés avec précision par les médecins de Varsovie; grâce à cela la maladie ne s'est pas répandue, et n'a causé aucun cas de contagion en dehors de ces formations sanitaires.

Toutefois, bientôt après, un autre foyer de choléra a éclaté à Varsovie. On a évacué notamment sur l'hôpital cholérique de Varsovie un soldat polonais d'un bataillon de gardes de la citadelle de Varsovie avec les symptômes cliniques de choléra chez lequel l'examen bactériologique des selles a confirmé le diagnostic. Ce bataillon a été immédiatement mis en quarantaine et soumis à la recherche des porteurs de germes: on a découvert ainsi deux porteurs, dont l'un est tombé immédiatement malade. Ce foyer s'est limité à ces 3 cas.

On n'a pu définir exactement la source de ce dernier foyer de choléra, mais la supposition la plus vraisemblable est celle que l'infection du soldat polonais s'est produite à la suite du contact avec les prisonniers bolchevicks qui travaillaient alors à la Citadelle et étaient justement gardés par les hommes de ce bataillon.

On n'a pas eu à enregistrer d'autres cas de choléra parmi la troupe et les prisonniers de guerre dans la garnison de Varsovie, quoique l'hôpital cholérique de Varsovie ait reçu dans la suite encore un certain nombre de cas suspects de choléra de la gare de rassemblement pour les malades de Varsovie et du camp de concentration pour les prisonniers de Rembertow, près de Varsovie; tous ces hommes venaient du front et quelques-uns d'entre eux se sont montrés porteurs de germes.

A la fin d'octobre, on a reçu à Varsovie un rapport de la forteresse de Modlin (région militaire de Varsovie), relatant

l'apparition de quelques cas suspects de choléra parmi les prisonniers de l'armée rouge.

Un bactériologiste envoyé immédiatement de Varsovie à Modlin a constaté ce qui suit : les premiers cas suspects se sont produits dans le port de la Vistule, le 24 octobre, chez

6 prisonniers bolchevicks, qui sont tombés malades avec les symptômes de diarrhée, vomissements et crampes dans les jambes; dans la nuit du 25 au 26 octobre, 4 nouveaux cas analogues se sont produits parmi les hommes du même détachement de prisonniers.

Evacués immédiatement sur l'hôpital militaire de la forteresse, 5 d'entre eux sont morts, mais l'autopsie n'a *soi-disant* pas confirmé le diagnostic de choléra.

En même temps, 5 prisonniers d'un autre détachement qui travaillait alors à l'Ecole de cadets de Modlin ont été évacués sur le même hôpital avec les symptômes cliniques de choléra; ainsi le nombre total de cas suspects est de 15.

L'examen bactériologique des selles, auquel on a procédé au laboratoire de l'hôpital militaire de la forteresse, a donné dans tous ces cas un résultat négatif qui comporte néanmoins des doutes sérieux, car ce laboratoire était mal approvisionné, et le bactériologiste de l'hôpital s'est vu obligé de procéder à l'ensemencement des selles suspectes non sur l'eau peptonée, mais sur le bouillon ordinaire sans peptone; d'autre part, il est à souligner que le matériel avait été prélevé d'une façon défectueuse chez les malades, car, étant puisé directement dans les bassins, il arrivait au laboratoire souillé d'urine.

En présence de ces faits, le bactériologiste de Varsovie, dans son rapport envoyé au département sanitaire du ministère de la Guerre, s'exprime avec raison ainsi : « Tous ces cas éveillent un fort soupçon quant au choléra, dont le foyer se trouve dans le détachement de prisonniers (arrivé récemment du front) et le résultat négatif de l'examen bactériologique est sans valeur en raison des fautes techniques dans le prélèvement et l'ensemencement du matériel (manque de peptone). »

D'ailleurs, des échantillons des selles prélevés par le même bactériologiste chez 3 prisonniers du même détachement qui, au moment de sa visite, se trouvaient à l'infirmerie avec les symptômes d'une affection gastro-intestinale, et apportés au laboratoire central de Varsovie, ont montré la présence de vibrions cholériques dans l'un d'eux. Egalement, un échantillon de selles prélevé à l'hôpital chez un convalescent de maladie suspecte a montré la présence des vibrions cholériques.

Ainsi, on peut considérer l'épidémie de choléra à Modlin comme suffisamment prouvée. Ce foyer, à la suite des mesures prophylactiques prises, n'a pas pris d'extension et a été rapidement éteint.

Le nombre total des cas de choléra et des porteurs de germes dans la région militaire de Varsovie se présente ainsi :

	Cas de choléra	Porteurs de germes	Cas mortels
	—	—	—
Soldats polonais	24	38	12
Prisonniers de guerre .	17	67	8

Sur ces entrefaites a éclaté un nouveau foyer de choléra dans la forteresse de Deblin (région militaire de Lublin) dans un détachement de prisonniers arrivé du camp de concentration de Siedlce qui avait été créé pour recevoir des bolchevicks faits prisonniers par une des armées polonaises opérant au front.

Comme les installations de ce camp étaient au plus haut degré anti-hygiéniques, on a décidé, le 15 octobre, de supprimer ce camp et de répartir les prisonniers présents en détachements pour être employés aux travaux dans diverses régions de Pologne.

Les autorités sanitaires locales ne se sont pas opposées à l'exécution de cet ordre, car, jusqu'à ce jour, aucun cas de choléra n'avait été constaté dans ce camp.

Un de ces transports comprenant 400 prisonniers a été dirigé le 19 octobre de Siedlce à Deblin, et déjà trois jours après, 2 d'entre eux sont tombés malades avec les symptômes cliniques de choléra confirmés bactériologiquement. Il faut donc considérer comme source de ce foyer le camp de concentration de Siedlce, dans lequel se trouvaient selon toute probabilité des porteurs de germes. Il faut souligner la circonstance heureuse que les autres détachements, expédiés du même camp dans d'autres localités, ne contenaient pas des porteurs de vibrions cholériques, car on a évité ainsi la propagation de l'épidémie dans le pays entier.

Toutefois, un de ces détachements envoyé à Rembertow, près de Varsovie, a causé probablement les quelques cas de choléra chez les prisonniers hospitalisés à Varsovie dont il a été question plus haut.

L'épidémie de Deblin, qui s'est limitée strictement aux baraquements où les prisonniers étaient logés, a duré du 22 octobre au 7 novembre et a fourni 29 cas de choléra dont 9 mortels, ce qui donne 31 p. 100 de mortalité.

Tous les hommes de ce détachement ont été examinés au point de vue de la recherche des porteurs de germes, et on a

découvert ainsi 16 porteurs sains; il a été impossible de constater s'ils avaient subi l'atteinte du choléra précédemment.

Ainsi le foyer de Deblin, qui a explosé subitement avec une grande force, a été liquidé en peu de temps (seize jours) et ne s'est pas étendu au dehors, ce qui est tout à l'honneur des autorités sanitaires de la région qui ont su agir rapidement et énergiquement.

Quelques jours s'étaient écoulés sans que les autorités centrales aient reçu de rapports sur les nouveaux cas de choléra dans le pays, quand, presque simultanément, ont éclaté deux nouveaux foyers de choléra, l'un au camp de prisonniers de Strzalkow, dans la région militaire de Poznan, et l'autre au camp de Wadowice, dans la région militaire de Cracovie.

L'état sanitaire du camp de prisonniers de Strzalkow était alors déplorable. Un grand nombre de prisonniers dirigés sur ce camp n'y a pas trouvé de place suffisante, et d'autre part ces hommes étaient si insuffisamment vêtus et si exténués de fatigue, qu'avec la saison froide ils devenaient facilement la proie des diverses affections de l'appareil respiratoire et digestif, ainsi que du typhus exanthématique et récurrent, et la mortalité parmi eux a pris une allure inquiétante.

L'armée polonaise était alors aussi extrêmement fatiguée en raison du grand effort qu'elle avait fourni pendant les dernières opérations militaires, le pays était en grande partie dévasté, tant et si bien que le Gouvernement polonais, malgré toute sa bonne volonté, n'a pu apporter le secours immédiat pour améliorer l'état sanitaire des prisonniers.

De cette façon, le camp de Strzalkow présentait un terrain extrêmement favorable à l'éclosion de toutes sortes d'épidémies.

Le tableau ci-dessus esquissé montre qu'en présence d'un grand nombre de malades avec le diagnostic de dysenterie, d'entérite, de faiblesse générale, etc., il est difficile de définir exactement la date et la genèse de l'épidémie du choléra dont les premiers cas ont pu passer inaperçus.

Il est impossible d'affirmer quand le choléra a débuté, d'autant plus que, vu le grand nombre de malades, les examens

bactériologiques se faisaient d'une façon superficielle, et la date du 12 novembre, à laquelle on a reçu à Varsovie la première annonce de l'apparition du choléra au camp de Strzalkow, nous paraît problématique.

Quant à la source de cette épidémie, ici encore il est difficile de la définir avec certitude, car les convois de prisonniers, dirigés sur ce camp, arrivaient des divers points du front, et quoique, en principe, ils eussent été soumis à une surveillance de quinze jours dans la zone des étapes, ils pouvaient contenir des porteurs de germes qui ont apporté la maladie ; il est aussi possible que le camp de concentration de Siedlce mentionné plus haut d'où quelques détachements sont arrivés à Strzalkow, était la source de l'épidémie dans ce camp.

L'épidémie du choléra à Strzalkow a duré plus longtemps que celles survenues dans d'autres localités, car elle n'a pris fin que le 1er mars, c'est-à-dire qu'elle a duré près de quatre mois.

Le nombre de cas de choléra confirmés bactériologiquement a atteint le chiffre de 435 sur le nombre total de l'effectif de 20.000 prisonniers présents, ce qui donne une morbidité de 2,2 p. 100 ; on a enregistré 264 décès, c'est-à-dire que la mortalité a atteint 60 p. 100 ; il faudrait ajouter à ces chiffres encore un certain nombre inconnu de cas de choléra non diagnostiqués.

Le nombre de porteurs de germes s'est montré à Strzalkow relativement moins élevé que dans les autres foyers de choléra, ce qu'il faut attribuer à ce fait que les recherches bactériologiques se faisaient à Strzalkow très lentement et qu'un certain nombre de porteurs ou bien ont cessé d'excréter des vibrions ou bien sont à leur tour tombés malades.

Ce n'est que le 22 janvier 1921, quand un bactériologiste énergique envoyé de Varsovie est arrivé avec un laboratoire mobile à Strzalkow, qu'on s'est mis à faire ces recherches en masse, et on a découvert dans un laps de temps très court 88 dizaines contenant des porteurs, car les recherches se faisaient par dizaines.

Ces 88 dizaines ont été examinées individuellement en quinze jours, mais on n'a retrouvé que dix-sept porteurs, les autres ayant sans doute cessé pendant ce temps-là d'héberger les vibrions cholériques.

L'épidémie de choléra, qui a fait son apparition dans la région militaire de Cracovie, a débuté également dans un camp de prisonniers bolchevicks, notamment à Wadowice.

Les conditions sanitaires dans lesquelles se trouvait alors ce camp étaient infiniment plus favorables que celles de Strzalkow, c'était un des camps des mieux entretenus où le nombre de cas des maladies contagieuses était infiniment petit. Toutefois les transports des prisonniers qui y arrivaient se composaient d'hommes en état de faiblesse extrême présentant ainsi un terrain propice pour la propagation des épidémies.

Les premiers cas de choléra ont été constatés au camp de Wadowice par le chef de laboratoire de l'hôpital militaire du camp, le 30 octobre 1920 ; mais il est possible que des cas de choléra non reconnus se soient produits déjà avant, ce qui résulte des enquêtes effectuées par les bactériologistes militaires de Cracovie et de Varsovie, qui ont constaté qu'au courant de plusieurs semaines précédentes il s'est produit des décès de prisonniers après une brève maladie caractérisée par la diarrhée et le collapsus.

Il est également difficile de définir de quelle localité le choléra a été transporté à Wadowice, car ce camp recevait constamment des transports de prisonniers des divers autres camps et du front, mais on peut présumer que la cause immédiate de cette épidémie consistait en arrivée à Wadowice des quelques porteurs de germes.

Le nombre total de prisonniers au camp de Wadowice atteignait alors le chiffre de près de 6.000, dont 164 ont eu le choléra et 77 sont morts, c'est-à-dire que la morbidité s'est élevée à 2,7 p. 100 et la mortalité à 47 p. 100. Les derniers cas de choléra ont été constatés le 21 novembre, l'épidémie a donc duré environ trois semaines. A part les mesures habituelles de prophylaxie, on a examiné tous les hommes présents au camp et on a trouvé 67 porteurs, ce qui fait 1,1 p. 100 du nombre total de l'effectif présent et 40,9 p. 100 de la morbidité.

Malgré toutes les mesures prises pour éteindre ce foyer le plus rapidement possible et le circonscrire, on n'a pas réussi à empêcher quelques foyers nouveaux qui ont été d'ailleurs de peu d'importance et rapidement vaincus.

Ainsi, tout d'abord, une des blanchisseuses de l'hôpital militaire du camp, qui avait refusé de se faire vacciner, a pris le choléra mortel, et dans sa famille qui habitait la ville se sont produits encore quatre cas de choléra dont un mortel; grâce aux mesures rigoureuses prises et surtout l'isolement strict de la maison habitée par cette famille, on n'a pas constaté d'autres cas de choléra parmi la population civile.

Si l'apparition de ces 5 cas de choléra en dehors du camp peut être mise au compte du manque de surveillance de la part du commandement du camp, les autres foyers de choléra qui se sont produits dans la région de Cracovie ne sont imputables à aucune faute de la part des mêmes autorités.

Il est arrivé en effet qu'entre le 25 et le 30 octobre, c'est-à-dire avant la constatation des premiers cas de choléra au camp de Wadowice, on a envoyé plusieurs détachements de prisonniers de ce camp pour travaux dans différentes localités de la région, et notamment : au service des eaux à Cracovie, au camp des prisonniers de Dabie, près de Cracovie, au service des forêts à Zakopane et à Nisko.

Le 30 octobre s'est produit un cas de choléra dans le premier de ces détachements, et quelques jours après encore 2 cas dans une famille de paysans se composant de 10 personnes qui s'est trouvée en contact avec les travailleurs bolchevicks; ces 3 malades sont morts, le reste de la famille a été immédiatement isolé et vacciné, leurs selles ont été examinées et ont montré la présence des vibrions cholériques (porteurs de germes).

Vu le danger que ce détachement de prisonniers présentait pour la population civile, il a été immédiatement retiré et interné au camp de Dabie dans un lot de baraquements avec quelques autres détachements suspects arrivés de Wadowice.

Parmi ces hommes isolés il s'est produit en quinze jours 19 cas de choléra, dont 9 mortels, et on a découvert la présence de 2 porteurs de germes. On peut considérer ce résultat comme très favorable, car le camp de Dabie contenait alors plusieurs milliers de prisonniers de guerre et d'internés civils, qui ont pu échapper à l'épidémie grâce à l'isolement rigoureux des détachements suspects.

Le troisième foyer d'épidémie, ayant toujours sa source au camp de Wadowice, a éclaté à Zakopane parmi les prisonniers qui ont quitté Wadowice le 28 octobre. Déjà en route, 7 hommes de cet échelon sont tombés malades avec des symptômes suspects, et 4 d'entre eux sont morts aussitôt arrivés à destination. Vu les mauvaises conditions d'habitation que ces prisonniers ont trouvé dans les hautes montagnes de Tatra (Carpathes) et vu l'alarme donnée sur ces entrefaites par la constatation du choléra au camp de Wadowice, ces prisonniers, aussi bien les hommes valides que les malades, ont été tous évacués par un train sanitaire au camp de Dabie ; en tout il y a eu dans ce détachement 16 cas de choléra dont 8 mortels. Mentionnons enfin un cas mortel de choléra chez un soldat polonais qui faisait partie de l'escorte d'un des détachements de prisonniers envoyés de Wadowice. Le détachement des prisonniers envoyé de Wadowice à Nisko n'a décelé aucun cas de choléra.

Ainsi, l'épidémie du choléra dans la région militaire de Cracovie, dans tous les foyers réunis, a fait 200 victimes avec une mortalité moyenne de 47, 75 p. 100.

A la fin de janvier 1921 a éclaté un nouveau foyer de choléra, toujours parmi les prisonniers, notamment au camp de Tuchola en Poméranie.

Cette épidémie a duré jusqu'à la moitié de mars, c'est-à-dire près de deux mois.

On peut émettre 2 hypothèses quant au point de départ de cette épidémie :

1° Ou bien chez les prisonniers venus du front on n'a pas recherché comme il faut les porteurs de germes ;

2° Ou bien, ce qui est plus vraisemblable, la cause immédiate de cette épidémie est dans l'arrivée au camp de Tuchola, dans la moitié de décembre, d'un certain nombre de prisonniers du camp de Strzalkow, où le choléra alors sévissait et qui, se trouvant alors en quarantaine, n'avait pas le droit de laisser partir qui que ce soit du camp.

L'état sanitaire du camp de Tuchola était un peu meilleur que celui décrit plus haut de Strzalkow, mais ici aussi on était très loin des conditions hygiéniques satisfaisantes : les prison-

niers se trouvaient en nombre dépassant la capacité normale du camp, ils étaient peu vêtus et en état d'extrême fatigue, le chauffage des baraquements et des abris souterrains était tout à fait insuffisant, en un mot, toutes les circonstances y étaient réunies pour favoriser la propagation de l'épidémie. Aussi il n'est pas étonnant que le nombre total des cas de choléra s'est élevé à Tuchola à 174 sur l'effectif de 10.000 prisonniers (1,74 p. 100 de morbidité) avec 102 cas mortels (59 p. 100 de mortalité).

Les recherches des porteurs de germes se faisaient à Tuchola avec beaucoup de lenteur, car on manquait de laboratoire sur place et on était obligé d'envoyer tout le matériel à examiner au laboratoire régional de Grudziadz qui ne s'est pas montré à la hauteur de la tâche. Et ce n'est que beaucoup plus tard, quand on a envoyé de Varsovie un bactériologiste avec un laboratoire mobile sur place, qu'on a examiné rapidement tout le monde, mais comme l'épidémie tirait déjà à sa fin, on n'a découvert que 4 porteurs de germes.

On n'a constaté aucun cas d'infection cholérique en dehors du camp, grâce à une surveillance étroite des relations du camp avec le monde extérieur.

En résumé, l'épidémie de 1920-1921 a causé en Pologne parmi les soldats polonais et les prisonniers de guerre en tout 877 cas de choléra dont 490 mortels (55 p. 100 de mortalité).

Le nombre de porteurs de germes a atteint le chiffre de 268, c'est-à-dire que le rapport du nombre de porteurs au nombre total de cas de choléra est égal à 30,5 p. 100.

Ces 877 cas de choléra se répartissent ainsi :

Prisonniers de guerre	835
Soldats polonais	42

Dans la population civile on a enregistré 114 cas de choléra avec 57 cas mortels.

Ces chiffres et, en général, toute la marche de l'épidémie nous suggèrent quelques réflexions qui peuvent se résumer ainsi :

1° Tous les cas d'infection cholérique se sont produits à la suite du contact direct des individus sains avec les individus

malades ou les porteurs de germes, tandis que l'eau, qui avait été examinée au point de vue bactériologique avec un soin particulier dans tous les foyers épidémiques, n'a joué aucun rôle épidémiologique.

2° La découverte d'un nombre considérable de porteurs de germes est impressionnante; en effet, ce nombre a atteint en moyenne jusqu'à 30,5 p. 100 de morbidité totale, et dans certaines régions, par exemple dans la région de Varsovie, s'est élevé à 256 p. 100, et à Deblin à 62 p. 100. En général, le nombre de porteurs s'est montré d'autant plus élevé que les recherches appropriées avaient été commencées plus tôt et qu'elles étaient effectuées avec plus de précision et de rapidité. C'est d'ailleurs tout à fait compréhensible, car, plus tard on procède à de pareilles recherches, et plus lentement on les exécute, moins on a de chances de découvrir les porteurs qui cessent sur ces entrefaites d'excréter les vibrions ou deviennent eux-mêmes victimes du choléra. L'expérience a montré que ces recherches peuvent être exécutées très rapidement, sans égard à la quantité de personnes à examiner; dans ce but, on fait les examens par groupes de 10, 50 ou 100 personnes, ce qui dépendra de l'effectif présent; les selles de chaque dizaine (cinquantaine, centaine) de personnes sont ensemencées dans le même ballon d'eau peptonée, et si elles donnent une culture négative, ces personnes sont rendues à la liberté, si, au contraire on obtient une culture des vibrions cholériques, on procède aux examens individuels. Pour gagner du temps, on peut, sans attendre les selles de chaque individu, faire les ensemencements à l'aide de tiges de fer enveloppées de coton, qu'on introduit dans le rectum et plonge ensuite dans l'eau peptonée. Ce dernier procédé a été employé maintes fois au courant de l'épidémie en Pologne, avec de très bons résultats.

Nous avons essayé de préciser combien de temps il faut à un porteur de germes pour s'en débarrasser complètement. Les chiffres qui nous avaient été communiqués par divers observateurs concordent assez et se maintiennent entre une et cinq semaines, en moyenne deux à trois semaines. Toutefois il faut se méfier de ces chiffres, car dans la majorité des cas on ignore le début de cet état de choses. Quand il s'agit des convalescents du choléra, l'observation a montré que les malades cessent

d'habitude d'excréter les vibrions cholériques à partir du jour de la disparition des symptômes cliniques. Divers traitements appliqués ainsi que les vaccinations préventives se sont montrés sans effet dans la lutte contre les porteurs.

On a noté des porteurs, chez lesquels les vibrions disparaissaient à un certain moment des selles, y réapparaissaient à un examen ultérieur fait quelques jours plus tard, d'où il faut conclure qu'il ne faut jamais renvoyer de l'hôpital des convalescents du choléra ou des porteurs de germes avant qu'on n'obtienne 2 et même 3 fois un examen négatif de leurs selles fait à intervalles de trois à cinq jours, sous peine de voir le choléra se propager en dehors de l'hôpital.

3° L'influence des vaccinations préventives sur la morbidité et la mortalité du choléra.

Les données que nous possédons à cet égard ne sont pas très précises, car le choléra éclatait souvent subitement à la suite des arrivages de convois de prisonniers qui ne possédaient aucun document spécifiant si et quand ils avaient été soumis aux vaccinations. Toutefois, comme il était de règle de les vacciner tous aussitôt après leur arrivée aux camps, on peut admettre que la grande majorité des cas de choléra se soient produits chez les hommes vaccinés.

L'épidémiologiste du camp de Strzalkow affirme que 300 cas de choléra se sont déclarés chez les hommes vaccinés, toutefois la mortalité était plus grande chez les individus non vaccinés que chez les vaccinés. Au camp de Tuchola, sur 174 cas de choléra, 143 se sont produits chez les vaccinés, 7 chez les non-vaccinés et 24 chez les individus vaccinés depuis plus de six mois.

Faut-il conclure de ces chiffres que les vaccinations préventives ne jouent aucun rôle dans la lutte contre le choléra? Une conclusion pareille serait en contradiction avec les statistiques publiées par divers auteurs lors des épidémies précédentes, et il n'est pas du tout dans nos intentions d'aller dans nos conclusions aussi loin; au contraire, quand on voit par exemple qu'à Strzalkow on n'a constaté que 435 cas de choléra sur l'effectif de 20.000 prisonniers, que la morbidité de Wadowice n'a été que de 1,1 p. 100 et celle de Tuchola de 1,77 p. 100, on peut présumer, que si l'on n'avait pas procédé aux vaccinations géné-

rales de tous les prisonniers, on aurait eu à déplorer un nombre de victimes beaucoup plus considérable, d'autant plus que l'isolement des malades et des suspects de choléra se faisait dans ces camps d'une façon imparfaite, vu le surpeuplement des baraquements.

A notre avis, les cas de choléra chez les individus vaccinés sont faciles à interpréter par une résistance considérablement diminuée des organismes des prisonniers qui étaient exténués à l'extrême limite, peu vêtus, mal alimentés et insuffisamment chauffés, ainsi qu'extrêmement fatigués au point de vue psychique et nerveux. Il est très probable que de tels organismes luttent mal contre l'envahissement par le microbe pathogène, même quand ils sont vaccinés, soit parce qu'ils ne sont pas en état de produire la quantité nécessaire d'anticorps spécifiques, soit que, malgré la présence de ces anticorps, leurs tissus et surtout leurs globules blancs se trouvent dans un état de faiblesse tel qu'ils ne sont pas capables d'englober et de digérer les microbes pathogènes qui se développent sans obstacle et infectent l'organisme.

Nous avons suggéré l'idée à plusieurs bactériologistes, qui ont eu à lutter contre le choléra dans les camps des prisonniers en Pologne, d'étudier cette question en mesurant le pouvoir agglutinant ou bactéricide du sérum des prisonniers vaccinés et le pouvoir phagocytaire de leurs globules blancs ; malheureusement aucun renseignement ne nous est parvenu.

Notre hypothèse nous paraîtra encore plus convaincante quand nous nous rappellerons le nombre insignifiant (42) des cas de choléra parmi les soldats polonais qui, à peu d'exceptions près, ont tous été vaccinés contre le choléra, mais qui se trouvaient dans des conditions d'hygiène infiniment meilleures que les prisonniers de guerre.

D'ailleurs, nous venons d'apprendre de la bouche de M. le Dr Roux, directeur de l'Institut Pasteur, et de M. le sénateur Dr Pottevin, directeur de l'Office international d'hygiène, que des faits analogues avaient été observés pendant la grande guerre chez les soldats serbes à Corfou, après leur retraite tragique de Serbie.

Ces hommes, tous vaccinés contre le choléra, sont arrivés à Corfou dans un état physique déplorable, et le choléra a

commencé à faire parmi eux des ravages terribles; mais quelque temps de repos et une bonne alimentation ont suffi pour arrêter net l'épidémie, sans prendre d'autres mesures prophylactiques.

CONCLUSIONS

L'expérience que nous avons tirée de l'épidémie du choléra en Pologne nous autorise à exprimer les conclusions suivantes, quant aux procédés qu'il faut employer dans la lutte contre cette maladie :

1° Malgré que l'infection cholérique puisse se produire sans aucun doute par l'eau souillée par les vibrions de Koch (rivières, sources, puits, etc.), ce qui est arrivé notamment dans plusieurs épidémies anciennes (celle de Hambourg où on a trouvé les vibrions cholériques dans l'Elbe, celles de la Russie où on a trouvé les mêmes microbes dans la Néva, la Wolga, etc.), il est indiscutable que dans certaines autres épidémies le contact joue le rôle prépondérant et même exclusif dans la propagation de la maladie; donc *l'isolement* des malades et des suspects de choléra ainsi que l'établissement d'une quarantaine pour les agglomérations où s'étaient produits des cas de choléra, présente une mesure prophylactique des plus importantes. L'épidémie du choléra en Pologne nous apprend en outre que plus les communications entre diverses régions du pays sont développées, plus il y a des chances de disséminer l'infection; en effet, tous les foyers de choléra que nous venons de décrire se sont produits à la suite des envois de convois de prisonniers d'une localité dans l'autre; aussi, les autorités militaires centrales, sur la proposition émise par le Service de Santé, ont décidé, aussitôt que les conditions l'eurent permis, de suspendre tout mouvement de prisonniers, et à partir de ce moment, la lutte contre le choléra s'est limitée à l'extinction des foyers déjà existants, sans que des foyers nouveaux apparaissent.

2° Il est nécessaire de procéder à la recherche des porteurs de germes dans les collectivités où se sont produits des cas de choléra, et les porteurs, dont le nombre parfois peut être

considérable, doivent être isolés jusqu'à leur guérison complète.

3° Les convalescents du choléra ne doivent pas être renvoyés de l'hôpital avant trois examens consécutifs négatifs de leurs selles.

4° Les vaccinations préventives (1) présentent une mesure prophylactique très importante dans la lutte contre le choléra.

5° Les pays menacés du choléra doivent posséder un certain nombre de laboratoires bactériologiques mobiles et des bactériologistes expérimentés qui puissent se rendre immédiatement dans les localités où on a constaté des cas de choléra pour y poursuivre leurs recherches épidémiologiques.

6° D'autres mesures prophylactiques comme la propreté, la désinfection, une bonne alimentation, etc., ont toutes leur importance qui est tellement évidente que nous trouvons superflu de nous étendre à ce sujet.

7° Ajoutons enfin que l'article 45 de la Convention internationale de Paris de 1912, interdisant l'arrêt obligatoire des voyageurs aux gares-frontières en vue des recherches bactériologiques, ne donne aucune garantie contre la propagation du choléra par les porteurs de germes.

En s'inspirant de l'article 49 de la même Convention, le Gouvernement polonais a établi des laboratoires bactériologiques dans les localités-frontières par où s'effectue l'échange des prisonniers de guerre et des émigrés avec la Russie, où on procède dans la mesure du possible à la recherche des porteurs de germes, et ainsi on a pu éviter jusqu'à ce jour l'apparition d'une nouvelle épidémie de choléra en Pologne, qui fait tous les jours de grands ravages sur toute l'étendue de la Russie, où les journaux ont annoncé dernièrement 80.000 cas de choléra (octobre 1921).

(1) Dans l'armée polonaise on emploie le vaccin « tetra » qui présente le mélange des vibrions cholériques, des bacilles typhiques, paratyphiques A et B, tués par la chaleur.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA FABRICATION DES NITRATES PAR L'OXYDATION BIOCHIMIQUE DE L'AMMONIAQUE

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

par E. BOULLANGER.

EXPÉRIENCES SEMI-INDUSTRIELLES

Les résultats fournis par les recherches de laboratoire que nous avons exposées dans un précédent mémoire (1) ont servi de base à des expériences semi-industrielles destinées à les vérifier dans des conditions de travail réalisables en pratique et à établir les possibilités d'une fabrication des nitrates en grand par la méthode biologique.

1° Description de l'installation.

Nous avons fait construire pour ces essais une installation représentée par le croquis ci-joint. Elle comprend neuf cases en maçonnerie, numérotées de 1 à 9 et placées côte à côte. Le croquis représente, en coupe transversale et longitudinale, une seule de ces cases : les autres sont disposées de la même manière. Chaque case est limitée à droite et à gauche par un mur ; elle est ouverte à l'avant, à l'arrière et en haut, et elle est terminée en bas par une tablette en ciment munie d'une ouverture centrale d'évacuation. La case est divisée en trois compartiments superposés ayant chacun 0 m. 50 de largeur, 1 m. 10 de longueur et 0 m. 47 de hauteur, formant ainsi un volume de 258 litres 5. Le volume total des trois compartiments qui constituent une case est donc de 775 litres 5. Entre chaque compartiment et celui qui se trouve au-dessous, on a réservé un espace vide d'environ 20 centimètres de hauteur.

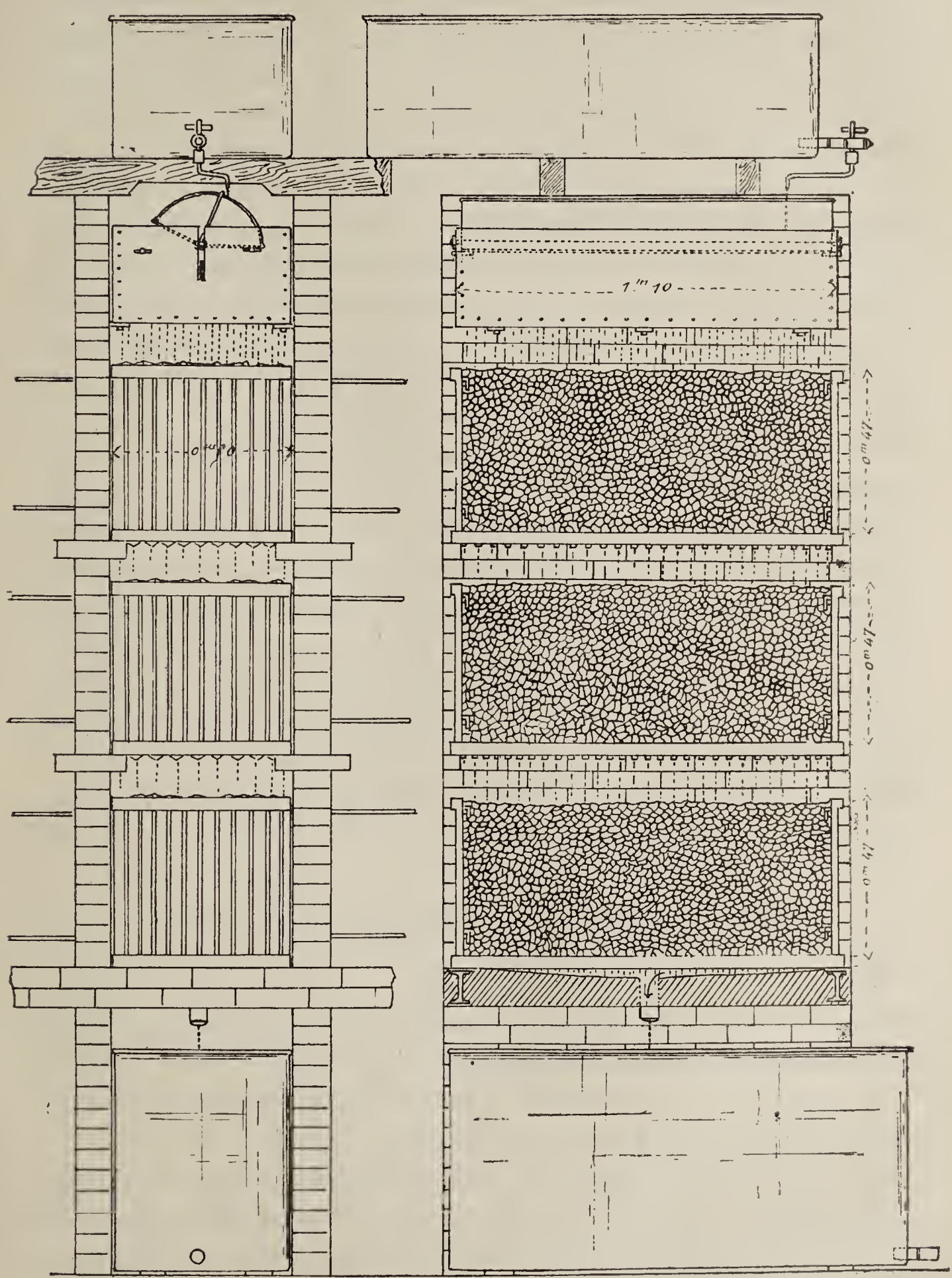
(1) Ces *Annales*, **35**, septembre 1921, p. 575.

Ces compartiments sont destinés à recevoir les supports, tourbe ou pouzzolanes, pour les microbes nitrificateurs. Leur fond est constitué par une claie en bois ajouré, de 0 m. 50 sur 1 m. 10, qui maintient la matière en laissant largement passer l'air. Les planches qui forment cette claie sont découpées à la partie inférieure en ligne brisée, de manière à constituer des pointes qui répartissent régulièrement le liquide d'arrosage sur toute la surface du compartiment situé immédiatement au-dessous. Il est facile de se rendre compte de cette disposition très simple sur la figure : elle assure automatiquement la régularité d'arrosage d'un compartiment à l'autre. Les matériaux qui constituent le support microbien sont maintenus latéralement par les murs de la case, au fond par la claie de bois, en avant et en arrière par des claies de bois ajourées; le dessus est libre pour recevoir les arrosages.

Chaque case est donc formée ainsi de trois compartiments superposés, remplis de tourbe ou de pouzzolanes, séparés par deux intervalles vides qui assurent une excellente aération. La claie inférieure du compartiment du bas repose sur un épaulement à quelques centimètres de la tablette inférieure en ciment. Les liquides qui s'en écoulent passent par le tuyau central de cette tablette et se réunissent dans un bac métallique de 430 litres placé au-dessous. L'installation comprend ainsi neuf bacs de réception de liquide, soit un bac par case. Les liquides d'arrosage sont maintenus dans neuf autres bacs métalliques de 400 litres, placés à la partie supérieure, à raison d'un bac sur chaque case. Le robinet d'écoulement de chacun de ces bacs vient goutter dans une gouttière à bascule qui déverse automatiquement, nuit et jour, en oscillant autour de son axe, à des intervalles qu'on peut régler à volonté en ouvrant plus ou moins le robinet du bac, un volume donné de la solution à nitrifier dans un bac répartiteur. Ce volume peut également varier à volonté en élevant plus ou moins l'axe d'oscillation de la gouttière et en modifiant ainsi son centre de gravité et ses conditions d'équilibre. On peut donc, à volonté, augmenter le nombre des affusions horaires en réduisant leur volume, ou réduire le nombre de ces affusions en augmentant leur volume.

Les bacs répartiteurs sont constitués par des cuvettes rectan-

gulaires en tôle, ayant exactement la longueur et la largeur de chaque case. Leur fond est percé de trous de 2 millimètres de



diamètre, qui laissent échapper très régulièrement, sur toute la surface du premier compartiment de la case située au-dessous,

le volume de liquide à nitrifier déversé lors de chaque oscillation de la gouttière.

Les liquides à nitrifier traversent successivement l'épaisseur des trois compartiments, soit 1 m. 41, et se réunissent dans le bac inférieur. Tous les bacs et ustensiles métalliques sont revêtus d'un enduit protecteur, à base de paraffine, pour éviter leur attaque par les solutions salines concentrées.

L'installation est complétée par une pompe centrifuge qui assure le mouvement mécanique et le transvasement des liquides et par deux bacs de traitement chimique, pour les doubles décompositions des solutions de nitrate de chaux écoulées des nitrières. Enfin des appareils de chauffage à la vapeur permettent de maintenir, dans la pièce où se trouvent les cases, une température voisine de 28°.

Cette installation avait été construite pour réaliser le mode de travail préconisé par Müntz et Lainé, exposé dans notre précédent mémoire, et consistant à faire passer un même liquide à nitrifier sur neuf nitrières successives. Mais à la suite des résultats obtenus dans nos essais de laboratoire par la repasse des solutions sur nitrière unique, nous avons décidé de faire fonctionner ces cases isolément, ce qui permettait d'y étudier comparativement la tourbe et les pouzzolanes, l'influence de l'état physique de la tourbe, les conditions les plus favorables de mise en route et de travail pratique, la nature des sels ammoniacaux à employer, etc.

2° Mise en marche et fonctionnement des cases.

Nous avons utilisé pour nos essais sept des cases décrites ci-dessus : les deux dernières ont été réservées pour des expériences éventuelles à entreprendre par la suite.

Les cases 1 et 2 ont été chargées avec une tourbe compacte en morceaux de la grosseur d'un œuf.

La case 3 devait recevoir de petites briquettes de tourbe façonnées au moule et séchées ensuite au séchoir, de manière à constituer des lits très perméables et très réguliers. Mais ces briquettes n'ont pas offert la résistance nécessaire; elles ont alors été concassées en petits morceaux dont la grosseur variait de celle d'un pois à celle d'une noix, c'est-à-dire beaucoup plus

fins que ceux des cases 1 et 2. La case 3 a été remplie de ces petits fragments de tourbe façonnée.

Les cases 4 et 5 ont été faites avec une tourbe mousseuse de Seine-et-Oise, très légère, très spongieuse, en morceaux de la grosseur d'une noix.

La case 6 a été chargée de pouzzolanes du Puy et la case 7 de pouzzolanes de Gravenoire, en grains gros comme des noyaux de cerises.

Pour toutes ces cases, le chargement s'est fait en disposant peu à peu, dans chaque compartiment, des couches successives de 10 centimètres de morceaux de tourbe gonflés d'eau, ou de pouzzolanes. Dès qu'une couche était terminée, on répartissait, avant de faire la couche suivante, du blanc de Meudon (carbonate de chaux naturel en poudre très fine), du phosphate de chaux naturel et du terreau, de manière à introduire finalement, par mètre cube de tourbe ou de pouzzolanes, 16 kilogr. de carbonate de chaux, 3 kilogr. de phosphate de chaux et 5 kilogr. de terreau. La craie constitue une réserve de calcaire pour la saturation de l'acide nitrique formé, le phosphate de chaux donne aux microbes nitrificateurs l'acide phosphorique qui leur est nécessaire, le terreau apporte les organismes de la nitrification et sert ainsi à l'ensemencement.

Les cases étant ainsi chargées jusqu'en haut on a fait passer pendant huit jours de l'eau sur les appareils, à raison de 300 litres par mètre cube de support et par jour. Ce lavage avait pour but, avec la tourbe, d'éliminer les produits acides qu'elle renferme et certaines matières organiques altérables qui gêneraient le travail. L'eau qui traverse s'écoule d'abord absolument rouge, puis elle s'éclaircit peu à peu quand le lavage se termine. Avec les pouzzolanes, un lavage de quarante-huit heures suffit, pour entraîner simplement les poussières : les liquides passent immédiatement incolores.

Les cases ont alors été mises en marche en commençant par des affusions faibles d'une solution de sulfate d'ammoniaque à 2 gr. 2 par litre. Ces affusions variaient de 40 litres à 80 litres par mètre cube de tourbe et par vingt-quatre heures; elles correspondaient à un ou deux déversements par heure d'un volume de 1.280 cent. cubes de solution, sur chaque case de 775 litres, par la gouttière à bascule, et les robinets d'alimen-

lation étaient réglés en conséquence. Cette marche a été poursuivie jusqu'à ce que les réactifs usuels indiquent une nitrification bien établie, ce qui a demandé, suivant les cases, de dix-huit à trente jours. Le peuplement en microbes nitrificateurs étant ainsi bien effectué, on a substitué à la solution de sulfate d'ammoniaque une solution de nitrate d'ammoniaque renfermant par litre 0 gr. 45 d'azote nitrique et 0 gr. 45 d'azote ammoniacal; puis chaque fois que les 365 litres de solution d'arrosage, que renfermait le bac supérieur, avaient traversé la masse d'une case, on reprenait dans le bac inférieur le liquide écoulé, on le ramenait au titre de 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre, sous le volume reconstitué à 365 litres, par addition de nitrate d'ammoniaque, et on utilisait ce liquide pour un nouvel arrosage sur la nitrière. Les affusions journalières, pendant cette période qui a duré de dix à quinze jours, ont été progressivement élevées jusqu'à 240 litres par mètre cube de tourbe ou de pouzzolanes. On constate que le titre en azote nitrique des solutions écoulées monte peu à peu par suite des repasses et que ces solutions ne contiennent presque plus d'ammoniaque non nitrifiée.

On porte alors la richesse en azote ammoniacal de la solution d'arrosage à 0 gr. 90 par litre, en utilisant toujours les liquides écoulés de chaque case pour reconstituer un nouveau volume de 365 litres de liquide d'arrosage au titre de 0 gr. 9 d'azote ammoniacal par litre, par addition de nitrate d'ammoniaque, par la méthode que nous avons décrite dans notre premier mémoire. Cette période dure environ dix à quinze jours; le volume des affusions journalières est porté progressivement de 120 litres à 240 litres par mètre cube de support et le titre en azote nitrique des liquides écoulés continue à monter régulièrement par suite des repasses.

A ce moment, soit trente-huit à soixante jours après la mise en marche, on a porté le titre en azote ammoniacal de la solution d'arrosage à 1 gr. 3 par litre, en utilisant toujours une fraction calculée du liquide nitrifié écoulé, dans laquelle on dissolvait la quantité nécessaire de nitrate d'ammoniaque pour avoir un titre en azote ammoniacal constant de 1 gr. 3 par litre. Les repasses de ce liquide sur chaque case, à raison de 120 à 160 litres par mètre cube de support et par jour, ont

permis ainsi d'élever en quinze à vingt jours le titre en azote nitrique à environ 7 gr. 6 par litre dans le liquide écoulé, ce qui correspond à une richesse en nitrate de chaux anhydre d'environ 45 grammes par litre.

A ce moment, la mise en marche peut être considérée comme terminée, car le taux de nitrate de chaux de la solution écoulée est suffisant pour que l'évaporation soit pratiquement possible en industrie sans dépenses exagérées de charbon. Cette mise en marche a duré de cinquante trois à quatre-vingts jours suivant les cases.

Celles-ci ont alors été maintenues en fonctionnement, dans des conditions déterminées que nous exposerons pour chacune d'elles, pendant un temps qui, pour certaines d'entre elles, a dépassé *quinze mois*. Il importait en effet de s'assurer de la possibilité d'un travail industriel prolongé. Dans toute cette période, on reconstituait sans cesse, pour les besoins de l'arrosage, le volume de 365 litres dans le bac supérieur d'alimentation, au titre choisi pour l'expérience. Pour obtenir par exemple ces 365 litres de nouvelle solution d'arrosage titrant 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre au moyen de la solution écoulée de la case, on déterminait les titres a et b de cette solution écoulée en azote ammoniacal et en azote nitrique. Si on désigne par V le volume à prélever sur cette solution et par d la quantité d'azote ammoniacal à réintroduire sous forme de nitrate d'ammoniaque, on a, comme nous l'avons vu dans notre précédent mémoire, les deux équations :

$$365 \times 5{,}7 = Vb + d.$$
$$365 \times 1{,}3 = Va + d.$$

Ces deux équations déterminent V et d. Après prélèvement, dans le bac inférieur, du volume V de liquide écoulé, ainsi calculé, et renvoi de ce volume dans le bac supérieur vide pour la reconstitution de la solution d'arrosage, on fait passer le reste du liquide écoulé dans un des bacs de double décomposision, où il est traité par une quantité calculée de sulfate ou de carbonate d'ammoniaque, de manière à faire passer tout le nitrate de chaux à l'état de nitrate d'ammoniaque. Il se précipite du sulfate ou du carbonate de chaux, et on obtient une solution de nitrate d'ammoniaque dont on établit le titre et sur

laquelle on prélève le volume nécessaire pour introduire la quantité *d* d'azote ammoniacal déterminée ci-dessus. Cette quantité *d* est envoyée dans le bac supérieur d'alimentation; on ajoute alors dans ce bac la quantité d'eau nécessaire pour amener le volume à 365 litres et reconstituer ainsi au titre voulu la solution d'arrosage.

Quant au reste de la solution de nitrate d'ammoniaque, titrant en moyenne 45 à 50 grammes par litre, elle constitue la production de la nitrière, qu'on peut sortir pour l'envoyer à l'évaporation.

Après quelque temps de fonctionnement, les affusions de 120 litres par mètre cube de support et par jour ont dû partout être réduites progressivement, d'abord à 80 litres, puis à 70 litres et même à 50 litres, conformément aux résultats obtenus dans nos expériences de laboratoire.

Signalons enfin qu'à chaque nouvelle addition de sel ammoniacal on ajoutait dans chaque case la quantité de calcaire nécessaire pour saturer l'acide nitrique correspondant à cette quantité d'ammoniaque. Ce calcaire, sous forme de blanc de Meudon très fin, était réparti, à la surface de chaque compartiment de la case, avec une petite pompe, après délayage dans un peu de liquide nitrifié. Son entraînement dans les profondeurs du lit se faisait assez aisément par le passage des liquides.

D'ailleurs les cases n'ont jamais manqué de calcaire, car l'entraînement se manifestait jusque dans le bac inférieur de récolte du liquide, en petites quantités qu'on remontait à la pompe, et les liquides nitrifiés avaient toujours une réaction alcaline à l'orangé.

3° Essais réalisés dans les diverses cases.

Il nous reste maintenant à décrire les essais que nous avons réalisés sur les diverses cases, qui n'ont pas été toutes soumises à un traitement identique. Certains essais ayant été faits en double, sur deux cases à la fois, nous nous bornerons, pour ne pas trop allonger ce mémoire, à donner les résultats fournis par l'une d'elles, les résultats ayant toujours été identiques dans ces expériences en double.

Case n° 1. — La mise en marche de cette case de tourbe a eu lieu très lentement, afin de pouvoir se rendre compte de l'influence de chaque volume d'affusion journalière, pendant un temps suffisant. L'arrosage avec la solution de sulfate d'ammoniaque à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre a duré un mois, l'affusion journalière croissant de 40 à 120 litres par mètre cube de tourbe. Les solutions écoulées ne renfermaient plus d'ammoniaque; elles étaient à peu près exemptes de nitrites et ne contenaient que des nitrates. Le peuplement microbien étant ainsi bien effectué, on a utilisé pour les arrosages une solution de nitrate d'ammoniaque renfermant 0 gr. 45 d'azote nitrique et 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre, en portant les affusions journalières à 160 litres par mètre cube de tourbe pendant une semaine, puis à 240 litres au mètre cube pendant cinq jours. Chaque fois que les 365 litres du bac supérieur d'alimentation étaient écoulés, on reprenait une fraction du liquide écoulé dans le bac inférieur et on le ramenait, par la méthode que nous avons indiquée, à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre, par addition de nitrate d'ammoniaque, pour le remonter dans le bac supérieur d'alimentation et le repasser sur la nitrière. Le titre en azote nitrique de la solution écoulée s'est élevé ainsi, dans cette période, de 0 à 1 gr. 788 par litre.

On a substitué alors à la solution à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre la solution à 0 gr. 9 par litre, en réduisant à 120 litres par mètre cube de tourbe l'affusion journalière, pendant une semaine, puis en la portant à 160 litres pendant six jours et à 240 litres pendant quatre jours. Le titre en azote nitrique est monté peu à peu, pendant toute cette période et par les repasses effectuées comme nous l'avons vu plus haut, de 1 gr. 788 à 3 gr. 531 d'azote nitrique par litre dans le liquide écoulé. Mais il était déjà visible que l'affusion de 240 litres ne pourrait pas être supportée longtemps par la nitrière, car il restait près de 0 gr. 5 par litre d'azote ammoniacal non nitrifié dans le liquide écoulé, soit plus de 50 p. 100 de l'azote ammoniacal introduit.

Nous avons cependant continué l'usage de ces affusions fortes, pour trancher la question d'une façon définitive, et nous rendre compte si l'augmentation d'activité des ferments ne

pourrait pas permettre le maintien ultérieur de ces affusions. On a substitué à la solution à 0 gr. 9 d'azote ammoniacal par litre la solution à 1 gr. 3, en réduisant à 160 litres par mètre cube de tourbe l'affusion journalière pendant une semaine, puis en la portant à 240 litres. Mais au bout de quatre jours de ce régime, la quantité d'azote ammoniacal oxydée n'atteignait plus que le tiers de la quantité introduite.

Il était donc démontré qu'en marche industrielle continue comme en essais de laboratoire, le volume des affusions journalières devait être considérablement réduit pour qu'on puisse maintenir pendant longtemps un travail normal. Les liquides écoulés titraient, au bout de soixante-douze jours de travail, 4 gr. 372 d'azote nitrique par litre, et 0 gr. 927 d'azote ammoniacal restant. On a donc réduit d'abord l'affusion journalière à 160 litres par mètre cube de tourbe, pendant dix-huit jours consécutifs. Le taux d'azote nitrique s'est élevé, par les repasses, peu à peu à 6 gr. 98 par litre, mais l'azote ammoniacal non oxydé restait encore aux environs de 0 gr. 850 par litre dans le liquide écoulé.

La démonstration de l'impossibilité du maintien des affusions fortes en travail industriel prolongé était donc complète. On a alors réduit l'affusion journalière à 80 litres par mètre cube de tourbe, chiffre qui correspond sensiblement à celui que nous avons considéré comme possible dans nos expériences de laboratoire. Le liquide écoulé était toujours repris et repassé sur la nitrière, après avoir ramené, sous un volume de 365 litres, le taux à 5 gr. 7 d'azote nitrique et à 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. La nitrière a été ainsi maintenue en fonctionnement avec ce régime du 19 septembre au 2 décembre, soit pendant un mois et demi. La teneur du liquide écoulé en azote ammoniacal restant a diminué peu à peu de 0 gr. 850 à 0 gr. 15, mais nous n'avons pu descendre au-dessous de ce chiffre, qui est même remonté peu à peu, par la suite, pour se fixer aux environs de 0 gr. 3 par litre. L'affusion de 80 litres par mètre cube de tourbe et par jour paraît donc être l'affusion maxima que peut tolérer la nitrière en marche continue, avec des liquides renfermant 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre à oxyder et une surcharge de 40 à 45 grammes par litre de nitrate de chaux préformé.

Par suite de la concentration par évaporation, les solutions écoulées, provenant de ce liquide d'arrosage à 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, titraient en moyenne 7 gr. 6 d'azote nitrique par litre, avec 0 gr. 3 d'azote ammoniacal restant.

Nous avons alors tenté d'élever un peu la concentration en nitrate de chaux en portant la richesse en azote nitrique de la solution d'arrosage, par repasses successives, d'abord à 6 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, puis à 7 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre. Le taux d'azote nitrique de la solution écoulée s'est ainsi élevé à 9 gr. 8 par litre en moyenne, soit 56 grammes par litre environ de nitrate de chaux anhydre, le titre en azote ammoniacal restant aux environs de 0 gr. 3 à 0 gr. 4 par litre. La marche de la case a continué ainsi pendant plus d'une année avec des résultats sensiblement constants.

Cet essai avait surtout pour but de fixer d'une façon précise les possibilités de marche industrielle continue et prolongée et de déterminer le volume maximum des affusions journalières correspondant à cette marche, avec des solutions d'arrosage renfermant 1 gr. 3 à 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre avec une charge de 45 à 55 grammes par litre de nitrate de chaux préformé. On voit nettement qu'*un fonctionnement régulier et prolongé des nitrières est parfaitement réalisable, à condition de ne pas dépasser une affusion de* 70 *litres de solution d'arrosage par mètre cube de tourbe et par jour.*

Nous n'avons pas fait d'essais de rendement industriel sur cette case.

Case n° 2. — La case n° 2, identique à la précédente, a subi exactement le même traitement : sa marche et ses résultats ont été les mêmes que ceux de la case n° 1.

Case n° 3. — Cette case, remplie de menus fragments de briquettes de tourbe, a été mise en marche beaucoup plus rapidement que les cases 1 et 2. Les arrosages avec la solution de sulfate d'ammoniaque à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre n'ont duré que quinze jours, puis on a procédé pendant dix jours à des arrosages avec la solution de nitrate d'ammo-

niaque à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre, en repassant chaque fois le liquide écoulé après nouvelle addition de sel ammoniacal et en portant peu à peu l'affusion à 240 litres par mètre cube et par jour. On a alors employé pendant huit jours la solution à 0 gr. 9 d'azote ammoniacal par litre, en portant progressivement l'affusion journalière de 120 à 240 litres au mètre cube de tourbe. Trente-trois jours après le début des arrosages, on a commencé à utiliser la solution à 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. On a d'abord essayé les affusions de 160 litres et de 240 litres au mètre cube de tourbe, mais après quelques jours d'arrosages il restait dans le liquide nitrifié environ 50 p. 100 de l'azote ammoniacal non oxydé. Il a donc fallu revenir à l'affusion de 120 litres, qui a été très bien supportée *pendant cinq semaines* : l'azote ammoniacal restant était tombé à quelques milligrammes par litre. Mais au bout de cette période, l'azote ammoniacal restant a commencé à augmenter peu à peu, pour atteindre au bout de trois nouvelles semaines 40 p. 100 de l'azote ammoniacal introduit et il a fallu, dans cette case comme dans les deux précédentes, réduire l'affusion à 70 litres par mètre cube de tourbe et par jour.

Ce résultat montre combien il faut être prudent dans les conclusions relatives au volume possible des affusions journalières. Ce n'est qu'*après une expérimentation prolongée pendant plusieurs mois qu'il est possible de tirer des conclusions fermes* : les résultats extrêmement favorables signalés par Müntz et Lainé dans leurs essais de laboratoire, poursuivis seulement pendant quelques heures, ne peuvent pas être envisagés un seul instant en pratique industrielle.

La case n° 3 a fonctionné pendant six mois encore, comme les cases 1 et 2, en donnant régulièrement des liquides à 7 gr. 55 d'azote nitrique par litre, avec 0 gr. 3 environ d'azote ammoniacal restant.

On a fait varier, tous les huit jours, le nombre des déversements par la gouttière, tout en conservant le volume total journalier de 70 litres, afin de se rendre compte de l'influence du mode de déversement de la solution d'arrosage. L'affusion a été ainsi donnée d'abord à raison de douze déversements de 240 centimètres cubes par heure, puis on a réduit, semaine par

semaine, le nombre des déversements par heure, en augmentant leur volume, pour arriver finalement à un déversement de près de six litres à la fois toutes les deux heures, le volume total journalier restant constant et fixé à 70 litres par mètre cube de tourbe. Nous n'avons pas constaté de différences sensibles dans le fonctionnement de la nitrière avec ces divers modes d'alimentation : il semble donc que *dans les limites adoptées pour ces essais* le mode de déversement de la solution d'arrosage soit sans grande importance.

Remarquons enfin l'influence de l'état physique de la tourbe sur la marche de la nitrière. Les résultats fournis *au début* par la case n° 3 ont été très supérieurs à ceux des cases n° 1 et n° 2. Ce fait ne peut tenir qu'au façonnage de la tourbe en briquettes, avec incorporation intime de calcaire. Mais par la suite les résultats des trois cases ont été sensiblement les mêmes.

Cases n°s 4 et 5. — Ces deux cases, chargées de la même tourbe que la case n° 3, mais à l'état naturel et en morceaux de la grosseur d'une noix, ont marché parallèlement. Leur mise en route a été sensiblement la même que celle de la case n° 3, avec cette différence cependant qu'on a renoncé aux affusions de 240 litres avec la solution à 0 gr. 9 d'azote ammoniacal par litre et à celles de 160 et 240 litres avec la solution à 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, les expériences précédentes sur les cases 1, 2, et 3 ayant démontré que ces affusions ne peuvent pas être supportées par les appareils. On a pu éviter ainsi l'élévation anormale du taux d'azote ammoniacal restant dans le liquide nitrifié. L'affusion de 120 litres par mètre cube de tourbe et par jour avec la solution à 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre a été maintenue un mois, le titre en azote nitrique de la solution écoulée croissant peu à peu jusqu'à 7 gr. 3 par litre. La quantité d'azote ammoniacal non nitrifié étant trop forte, l'affusion journalière a dû être ramenée au bout d'un mois à 80 litres par mètre cube de tourbe. La marche s'est alors à peu près régularisée.

Ces cases ont fonctionné pendant six mois avec un contrôle régulier de toutes les entrées et de toutes les sorties d'azote, de manière à pouvoir dresser un bilan aussi exact que possible

du rendement d'une nitrière de tourbe. Pendant toute cette période, le liquide d'arrosage a titré 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. Dès que les 365 litres de solution d'arrosage, contenus dans le bac supérieur, étaient écoulés, on prenait dans le bac inférieur le volume du liquide nitrifié, on y dosait aussitôt l'azote nitrique et l'azote ammoniacal ; on déterminait ainsi, par les deux équations précédemment indiquées, le volume V à remonter dans le bac supérieur et la quantité *d* d'azote nitrique et ammoniacal à réintroduire sous la forme de solution de nitrate d'ammoniaque pour reconstituer les 365 litres de solution d'arrosage au titre voulu ; on mesurait le volume restant dans le bac inférieur et on l'envoyait au bac de double décomposition par le sulfate d'ammoniaque. Ce dernier bac livrait tout le nitrate d'ammoniaque nécessaire pour introduire chaque fois la quantité *d* demandée par la nitrière. Le reste constituait la production en nitrate d'ammoniaque. On aurait pu, aussi facilement, avoir la production en nitrate de chaux en ne décomposant par le sulfate d'ammoniaque que la quantité nécessaire pour avoir chaque fois la quantité *d* sous forme de nitrate d'ammoniaque pour alimenter la nitrière.

Le tableau suivant résume la marche de la case 4 dans toute cette période.

Les chiffres donnés par ce tableau permettent d'établir le rendement pratique d'une nitrière. La marche de la case 4 a été poursuivie, comme nous le verrons, après le 17 avril, mais nous avons supposé, pour établir la balance entre l'azote entré et l'azote récupéré, que tout le volume écoulé de la nitrière à la date du 17 avril avait été sorti à cette époque. L'azote ammoniacal introduit dans les huit mois de fonctionnement a été de 0 kilogr. 328 + 15 kilogr. 697 = 16 kilogr. 025. D'autre part l'azote nitrique introduit dans la même période a été de 15 kilogr. 697. Or, on a récupéré 26 kilogr. 502 d'azote nitrique et 1 kilogr. 410 d'azote ammoniacal non oxydé ; mais il faut, pour faire le bilan total de la transformation, ajouter à ces chiffres l'azote correspondant au liquide qui imbibe la masse de la tourbe à la fin de l'expérience. Ce liquide peut être évalué approximativement en comptant que la tourbe saturée retient 350 litres au mètre cube. Le volume correspondant à

la case de 775 litres de tourbe serait donc de 270 litres. En admettant comme composition de ce liquide la moyenne entre le liquide d'arrosage et le dernier liquide écoulé, ce qui est sensiblement exact, on a donc à ajouter 270 litres à $\frac{5,7 + 7,556}{2} = 6$ gr. 628 d'azote nitrique et à $\frac{1,3 + 0,368}{2}$ $= 0$ gr. 834 d'azote ammoniacal par litre, soit 1 kilogr. 790 d'azote nitrique et 0 kilogr. 225 d'azote ammoniacal. La totalité d'azote nitrique récupéré est donc de $26,502 + 1,790$ $= 28$ kilogr. 292 et la totalité de l'azote ammoniacal retrouvé est de $1,410 + 0,225 = 1$ kilogr. 635.

Si nous envisageons la totalité de l'azote entré et si nous comparons ce chiffre à la totalité de l'azote récupéré, on voit que sur 31 kilogr. 722, on en retrouve 29 kilogr. 927, ce qui correspond à un rendement de 94,3 p. 100. Mais ce calcul suppose qu'une fraction de l'azote nitrique introduit s'est perdu dans le fonctionnement de la nitrière. Si nous supposons que l'azote nitrique introduit ne subit aucune déperdition, le bilan de la transformation de l'azote ammoniacal prend un autre aspect. On voit en effet que $16,025 - 1,635$ $= 14$ kilogr. 390 d'azote ammoniacal disparus ont donné $28,292 - 15,697 = 12$ kilogr. 595 d'azote nitrique formé, en supposant que les 15 kilogr. 697 d'azote nitrique introduits n'aient subi aucune perte. Ces chiffres correspondent à un rendement de 87,5 p. 100, et c'est là le rendement réel de la transformation de l'azote ammoniacal. On voit que ce rendement est légèrement supérieur à celui que nous avons obtenu dans nos expériences en cloches.

D'ailleurs, si nous envisageons la période de marche régulière et normale avec la solution à 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, nous pouvons calculer, au moyen des chiffres du tableau précédent, que la teneur moyenne du liquide écoulé a été de 7 gr. 499 d'azote nitrique et de 0 gr. 367 d'azote ammoniacal par litre, sous un volume moyen de 318 lit. 6 par période de six jours. Le volume primitif du liquide d'arrosage étant dans cette même période de 365 litres, on voit que si le liquide écoulé n'avait subi aucune concentration par évaporation, il titrerait, sous ce volume de 365 litres, 6 gr. 546 d'azote nitrique et 0 gr. 320 d'azote ammo-

PÉRIODES	AMPUSIONS par mètre cube de tourbe et par jour, en litres	AZOTE INTRODUIT en kilogr.			TENEUR DU LIQUIDE				VOLUME EN LITRES		AZOTE RÉCUPÉRÉ A LA SORTIE en kilogr.		
		par le sulfate d'ammóniaque	PAR LE NITRATE D'AMMONIAQUE		D'ARROSAGE en gr., par litre AZOTE		ÉCOULÉ en gr., par litre en fin de période AZOTE		repris pour la reconstitution du bac de 365 litres de solution d'arrosage à la fin de la période	sorti et envoyé à l'extraction			
			nitrique	ammoniacal	nitrique	ammoniacal	nitrique	ammoniacal			nitrique	ammoniacal	total
17-28 août 1917	40	0,164	»	»	0	0,45	0,14	traces.	318	»	»	»	»
29-3 sept. —	80	0,164	»	»	0,12	0,45	0,50	traces.	36	286	0,143	0,000	0,143
4-7 — —	120	»	0,164	0,164	0,5	0,45	0,64	0,022	207	113	0,072	0,002	0,074
8-10 — —	160	»	0,160	0,160	0,8	0,45	1,10	0,039	223	95	0,105	0,004	0,109
11-12 — —	240	»	0,156	0,156	1,1	0,45	1,43	0,044	250	69	0,099	0,003	0,102
13-14 — —	240	»	0,153	0,153	1,4	0,45	1,756	0,059	194	123	0,216	0,007	0,223
15-19 — —	94	»	0,317	0,317	1,8	0,9	2,166	0,134	233	87	0,188	0,012	0,200
20-22 — —	160	»	0,297	0,297	2,2	0,9	2,835	0,295	244	74	0,210	0,022	0,232
23-25 — —	160	»	0,257	0,257	2,6	0,9	3,325	0,255	208	114	0,379	0,029	0,408
26-29 — —	120	»	0,421	0,421	3,05	1,3	3,791	0,362	234	87	0,330	0,031	0,361
30-3 oct. —	120	»	0,390	0,390	3,5	1,3	4,538	0,456	237	83	0,377	0,038	0,415
4-7 — —	120	»	0,366	0,366	3,95	1,3	4,928	0,593	261	61	0,301	0,030	0,331
8-11 — —	120	»	0,320	0,320	4,4	1,3	5,516	0,586	263	57	0,314	0,033	0,347
12-15 — —	120	»	0,320	0,320	4,85	1,3	5,978	0,537	268	50	0,299	0,027	0,326
16-19 — —	120	»	0,331	0,331	5,3	1,3	6,502	0,510	268	52	0,338	0,027	0,365
20-23 — —	120	»	0,338	0,338	5,7	1,3	6,987	0,517	248	74	0,517	0,038	0,555
24-27 — —	120	»	0,346	0,346	5,7	1,3	7,363	0,517	235	83	0,611	0,043	0,654
28-31 — —	120	»	0,353	0,353	5,7	1,3	7,287	0,387	233	95	0,692	0,037	0,729
1er-6 nov. —	80	»	0,388	0,388	5,7	1,3	7,233	0,318	232	99	0,716	0,031	0,747

[illegible]	»	»	0,415	0,415	5,7	1,3	7,421	0,354	227	97	0,720	0,034	0,754
19-24 — —	80	»	0,394	0,394	5,7	1,3	7,597	0,391	223	92	0,699	0,036	0,735
25-30 — —	80	»	0,387	0,387	5,7	1,3	7,557	0,360	223	95	0,718	0,034	0,752
1er-6 déc. —	80	»	0,394	0,394	5,7	1,3	7,493	0,370	225	94	0,704	0,035	0,739
7-12 — —	80	»	0,391	0,391	5,7	1,3	7,520	0,358	224	95	0,714	0,034	0,748
13-18 — —	80	»	0,394	0,394	5,7	1,3	7,290	0,429	234	91	0,663	0,039	0,702
19-24 — —	80	»	0,374	0,374	5,7	1,3	7,589	0,341	222	94	0,713	0,032	0,745
25-30 — —	80	»	0,399	0,399	5,7	1,3	7,457	0,409	228	91	0,679	0,037	0,716
31-5 janv. 1918	80	»	0,381	0,381	5,7	1,3	7,500	0,365	225	94	0,705	0,034	0,739
6-11 — —	80	»	0,392	0,392	5,7	1,3	7,583	0,342	222	94	0,713	0,032	0,745
12-17 — —	80	»	0,399	0,399	5,7	1,3	7,533	0,348	223	97	0,731	0,034	0,765
18-23 — —	80	»	0,397	0,397	5,7	1,3	7,471	0,368	226	94	0,702	0,035	0,737
24-29 — —	80	»	0,391	3,391	5,7	1,3	7,357	0,415	231	92	0,677	0,038	0,715
30-4 fév. —	80	»	0,379	0,379	5,7	1,3	7,549	0,394	224	91	0,687	0,036	0,723
5-10 — —	80	»	0,386	0,386	5,7	1,3	7,563	0,391	224	91	0,688	0,036	0,724
11-16 — —	80	»	0,387	0,387	5,7	1,3	7,617	0,351	221	93	0,708	0,033	0,741
17-22 — —	80	»	0,397	0,397	5,7	1,3	7,583	0,330	221	94	0,713	0,031	0,744
23-28 — —	80	»	0,402	0,402	5,7	1,3	7,591	0,318	221	94	0,714	0,030	0,744
1er-6 mars —	80	»	0,404	0,404	5,7	1,3	7,557	0,336	222	94	0,710	0,032	0,742
7-12 — —	80	»	0,400	0,400	5,7	1,3	7,396	0,357	228	94	0,695	0,034	0,729
13-18 — —	80	»	0,393	0,393	5,7	1,3	7,513	0,361	225	93	0,699	0,034	0,733
19-24 — —	80	»	0,393	0,393	5,7	1,3	7,558	0,388	224	91	0,688	0,035	0,723
25-30 — —	80	»	0,388	0,388	5,7	1,3	7,591	0,375	223	90	0,683	0,034	0,717
31-5 avril —	80	»	0,391	0,391	5,7	1,3	7,575	0,343	222	95	0,720	0,033	0,753
6-11 — —	80	»	0,398	0,398	5,7	1,3	7,537	0,357	224	93	0,701	0,033	0,734
12-17 — —	80	»	0,395	0,395	5,7	1,3	7,556	0,368	»	315	2,380	0,116	2,496
Totaux . . .	»	0,328	15,697	15,697	»	»	»	»	»	»	26,502	1,410	27,912

niacal par litre. Donc, 6 gr. 546 — 5 gr. 7 = 0 gr. 846 d'azote nitrique ont été obtenus au moyen de 1,3 — 0,32 = 0 gr. 98 d'azote ammoniacal, ce qui correspond à un rendement de 86,3 pour 100, chiffre voisin du précédent.

A partir du 17 avril 1918, on a commencé à faire monter le titre en azote nitrique de la case 4, en repassant sans cesse les liquides écoulés sur la nitrière, après addition d'une nouvelle dose de nitrate d'ammoniaque pour ramener toujours la teneur en azote ammoniacal à 1 gr. 3 par litre. Nous avons pu ainsi, au bout de trois mois, élever le titre de la solution d'arrosage à 15 grammes d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. Les liquides écoulés titraient en moyenne 18 gr. 182 d'azote nitrique par litre, par suite de la concentration par évaporation, avec 0 gr. 385 en moyenne d'azote ammoniacal restant, mais l'affusion journalière a dû être abaissée à 50 litres par mètre cube de tourbe et par jour, pour que le fonctionnement de la nitrière reste régulier avec des liquides à cette concentration. Le volume moyen écoulé dans chaque période de dix jours ayant été de 318 litres, on voit que la solution moyenne écoulée, ramenée au volume primitif de 365 litres, aurait titré 15 gr. 841 d'azote nitrique et 0 gr. 335 d'azote ammoniacal par litre. Donc 15 gr. 841 — 15 gr. = 0 gr. 841 d'azote nitrique ont été obtenus au moyen de 1 gr. 3 — 0 gr. 335 = 0 gr. 965 d'azote ammoniacal, ce qui correspond à un rendement de 87,1 p. 100. On peut donc parfaitement obtenir, en marche industrielle continue, des liquides renfermant près de 11 p. 100 de nitrate de chaux anhydre. Il est même probable que cette concentration pourrait être légèrement dépassée et amenée à 14 p. 100 de nitrate de chaux par litre, comme nous l'avons réalisé dans les expériences en cloches décrites dans notre premier mémoire.

Le fonctionnement de ces deux cases a été arrêté en novembre 1918, au moment de l'armistice, après une marche de plus de quinze mois.

Trois semaines avant cet arrêt, nous avons sacrifié la case 5 pour étudier l'influence de l'épaisseur du lit de tourbe sur l'oxydation de l'ammoniaque. Nous avons d'abord supprimé le compartiment du bas, en plaçant au-dessous du compartiment du milieu une plaque métallique paraffinée qui recueillait tous

les liquides écoulés de la nitrière. Dans ces conditions, la nitrière ne fonctionnait plus qu'avec l'épaisseur de deux compartiments au lieu de trois. La teneur moyenne du liquide écoulé en azote ammoniacal restant, pendant une période de dix jours de travail, a été de 0 gr. 702. Nous avons alors supprimé les compartiments du milieu et du bas en plaçant la plaque métallique sous le compartiment supérieur : la nitrière ne fonctionnait donc plus qu'avec l'épaisseur d'un seul compartiment. Pendant une nouvelle période de dix jours, les liquides écoulés titraient en moyenne 1 gr. 093 d'azote ammoniacal restant par litre.

Cet essai montre que l'oxydation de l'ammoniaque se poursuit à peu près régulièrement dans chaque compartiment. Un quart environ de l'ammoniaque est nitrifié dans le premier, un second quart l'est dans le deuxième, un troisième quart l'est dans le troisième. Il est probable qu'en augmentant l'épaisseur du lit on serait arrivé à une oxydation presque complète ; mais l'installation ne se prêtait pas à cette expérience. Elle pourrait d'ailleurs être réalisée par une réduction correspondante de l'affusion journalière, mais elle ne présente pas d'intérêt pratique, puisque les quantités d'ammoniaque non oxydée rentrent dans le travail. D'autre part l'oxydation de l'ammoniaque en milieu très étendu devient toujours plus lente : on n'a donc aucun avantage à pousser l'oxydation jusqu'à ses dernières limites.

Ajoutons enfin que pour nous rendre compte du fonctionnement des diverses parties des lits, nous avons procédé, au cours des essais avec la case 4, à des analyses des atmosphères intérieures. Il était, en effet, très intéressant de savoir si l'oxygène était assez abondant dans la masse tourbeuse, malgré son absorption par le ferment pour l'oxydation de l'ammoniaque et le dégagement d'acide carbonique provenant de la décomposition du calcaire par l'acide nitrique formé. Les prélèvements ont été faits au moyen d'une pipette à gaz, par l'intermédiaire d'un tube qu'on enfonçait plus ou moins dans le lit, on commençait par purger le tube au moyen de deux ou trois absorptions, puis on prélevait 1 c. c. 5 de gaz environ. Cette très petite quantité était analysée par les méthodes et au moyen des appareils employés par MM. Schlœsing fils et Laurent

dans leurs belles recherches sur la fixation de l'azote par les légumineuses. Le taux d'acide carbonique, dans les couches les plus profondes, a varié entre 0,66 et 0,42 pour 100 ; la teneur en oxygène a varié de 20,5 à 20,7 p. 100. On voit que l'atmosphère interne des nitrières se renouvelle parfaitement par diffusion et que l'oxygène y est toujours assez abondant pour que la nitrification puisse s'y exercer normalement.

Case n° 6. — Cette case, chargée de pouzzolanes du Puy, a été mise en route comme les cases 4 et 5. La marche de la case pendant la mise en route a été sensiblement la même que celle de la case n° 3, la meilleure des cases de tourbe. L'affusion journalière de 120 litres par mètre cube de pouzzolanes, atteinte au bout de cinq semaines, a pu être maintenue avec d'excellents résultats pendant cinq nouvelles semaines et le titre en azote nitrique du liquide d'arrosage a pu être rapidement porté à 5 gr. 7 par litre. Mais à ce moment l'azote ammoniacal restant a commencé à augmenter et l'affusion a dû être réduite à 80 litres, puis à 67 litres par mètre cube de pouzzolanes et par jour.

L'alimentation en sel ammoniacal a été faite, pour cette case, avec une solution de nitrate d'ammoniaque provenant de la double décomposition par le sesquicarbonate d'ammoniaque d'une partie de la solution nitrifiée écoulée de la case.

Cette case à fonctionné pendant deux mois avec une solution d'arrosage titrant 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, comme les cases de tourbe, puis la richesse du liquide d'arrosage a été portée pendant deux mois à 6 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, pendant deux nouveaux mois à 7 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal et enfin pendant les deux derniers mois à 8 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre. Après ces dix mois de fonctionnement, la case a été arrêtée.

Comme pour les cases 4 et 5, on a tenu pendant toute la période de fonctionnement un contrôle régulier de toutes les entrées et de toutes les sorties d'azote, afin de pouvoir dresser le bilan du rendement d'une nitrière à pouzzolanes et le comparer avec celui d'une nitrière tourbeuse. La marche a été

absolument conduite comme celle des cases 4 et 5 et la reconstitution des liquides d'arrosage se faisait par la même méthode, chaque fois que le bac supérieur d'alimentation était vide.

Le tableau suivant résume la marche de la case 6 dans toute cette période.

Si nous calculons le rendement pratique de cette nitrière à pouzzolanes comme nous avons calculé le rendement de la nitrière tourbeuse n° 4, nous voyons que l'azote ammoniacal introduit dans les dix mois de fonctionnement a été de 21 kg. 434 et l'azote nitrique de 21 kilogr. 106. Or, on a récupéré 37 kilogr. 108 d'azote nitrique et 1 kilogr. 461 d'azote ammoniacal non oxydé, soit en tout 38 kilogr. 569. Il faut ajouter à ce chiffre, pour établir le bilan de l'azote, les chiffres d'azote qui correspondent au liquide qui imbibe la masse à la fin de l'expérience. Les pouzzolanes retiennent environ 200 litres de liquide au mètre cube : le volume correspondant à la case de 775 litres est donc de 155 litres environ, à une teneur moyenne de $\frac{8,5 + 10,822}{2} = 9$ gr. 661 d'azote nitrique et de $\frac{1,5 + 0,380}{2}$ $= 0$ gr. 940 d'azote ammoniacal par litre. Les quantités correspondantes d'azote sont donc de 1 kilogr. 497 d'azote nitrique et de 0 kilogr. 146 d'azote ammoniacal. Nous retrouvons donc en tout 38 kilogr. 605 d'azote nitrique et 1 kilogr. 607 d'azote ammoniacal. Il en résulte que 21 kilogr. 434 — 1 kilogr. 607 = 19 kilogr. 827 d'azote ammoniacal ont donné 38 kilogr. 605 — 21 kilogr. 106 = 17 kilogr. 499 d'azote nitrique, ce qui correspond à un rendement de 88,26 p. 100, chiffre légèrement supérieur à celui que nous avons obtenu avec la tourbe.

En prenant la moyenne des liquides écoulés dans la période de marche normale avec la solution à 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, on peut calculer que la teneur moyenne des liquides écoulés a été de 7 gr. 636 d'azote nitrique et de 0 gr. 348 d'azote ammoniacal par litre, sous un volume moyen de 315 litres par période de débit d'un bac de 365 litres de solution d'arrosage. On voit que si le liquide écoulé était ramené au volume primitif de 365 litres, il titrerait 6 gr. 588 d'azote nitrique et 0 gr. 300 d'azote ammoniacal. Donc 6 gr. 588 — 5 gr. 7 = 0 gr. 888 d'azote nitrique ont été obtenus au moyen de 1 gr. 300 — 0 gr. 300 = 1 gr.

PÉRIODES	AFFUSIONS par mètre cube de pouzzolane et par jour, en litres	AZOTE INTRODUIT en kilogr.			TENEUR DU LIQUIDE				VOLUME EN LITRES		AZOTE RÉCUPÉRÉ A LA SORTIE en kilogr.		
		par le sulfate d'ammoniaque	PAR LE NITRATE D'AMMONIAQUE		D'ARROSAGE en gr., par litre AZOTE		ÉCOULÉ en gr., par litre, en fin de période AZOTE		repris pour la reconstitution du bac de 365 litres de solution d'arrosage à la fin de la période	sorti et envoyé à l'extraction			
			nitrique	ammoniacal	nitrique	ammoniacal	nitrique	ammoniacal			nitrique	ammoniacal	total
23-3 sept. 1917	40	0,164	»	»	»	0,45	0,272	traces.	312	»	»	»	»
4-9 — —	80	0,164	»	»	0,23	0,45	0,622	traces.	117	198	0,123	0,000	0,123
10-13 — —	120	»	0,164	0,164	0,65	0,45	1,009	traces.	217	100	0,101	0,000	0,101
14-16 — —	160	»	0,164	0,164	1,05	0,45	1,475	traces.	247	71	0,105	0,000	0,105
17-18 — —	240	»	0,164	0,164	1,45	0,45	1,922	traces.	266	54	0,104	0,000	0,104
19-20 — —	240	»	0,164	0,164	1,85	0,45	2,346	0,010	281	41	0,096	0,000	0,096
21-24 — —	120	»	0,161	0,161	2,25	0,45	2,785	0,020	231	91	0,253	0,002	0,255
25-27 — —	160	»	0,324	0,324	2,65	0,9	3,464	0,020	228	96	0,333	0,002	0,335
28-30 — —	160	»	0,324	0,324	3,05	0,9	4,162	0,065	196	122	0,508	0,008	0,516
1er-4 octob. —	120	»	0,462	0,462	3,5	1,3	4,924	0,080	203	117	0,576	0,009	0,585
5-8 — —	120	»	0,458	0,458	4,0	1,3	5,550	0,194	218	100	0,555	0,019	0,574
9-12 — —	120	»	0,432	0,432	4,5	1,3	5,964	0,303	245	77	0,459	0,023	0,482
13-16 — —	120	»	0,400	0,400	5,1	1,3	6,662	0,318	253	67	0,446	0,021	0,467
17-20 — —	120	»	0,394	0,394	5,7	1,3	7,307	0,327	230	88	0,643	0,029	0,672
21-24 — —	120	»	0,399	0,399	5,7	1,3	7,543	0,338	223	96	0,724	0,032	0,756
25-28 — —	120	»	0,399	0,399	5,7	1,3	7,645	0,342	220	93	0,711	0,032	0,743
29-1er nov. —	120	»	0,399	0,399	5,7	1,3	7,663	0,342	219	95	0,728	0,032	0,760
2-5 — —	120	»	0,400	0,400	5,7	1,3	7,689	0,339	218	93	0,715	0,032	0,747
6-9 — —	120	»	0,401	0,401	5,7	1,3	7,664	0,348	221	96	0,730	0,033	0,763
10-13 — —	120	»	0,398	0,398	5,7	1,3	7,688	0,331	218	94	0,723	0,031	0,754
14-17 — —	120	»	0,402	0,402	5,7	1,3	7,600	0,345	221	96	0,730	0,033	0,763
18-21 — —	120	»	0,398	0,398	5,7	1,3	7,521	0,388	225	92	0,692	0,036	0,728

4-9 — —	80	»	0,401	0,401	5,7	1,3	7,716	0,333	218	94	0,725	0,031	0,756
10-15 — —	80	»	0,402	0,402	5,7	1,3	7,672	0,369	220	95	0,729	0,035	0,764
16-21 — —	80	»	0,393	0,393	5,7	1,3	7,723	0,354	248	67	0,517	0,024	0,541
22-28 — —	67	»	0,460	0,460	6,5	1,5	8,100	0,361	236	80	0,648	0,029	0,677
29-4 janv. 1918	67	»	0,462	0,462	6,5	1,5	8,621	0,385	222	96	0,828	0,037	0,865
5-11 — —	67	»	0,462	0,462	6,5	1,5	8,702	0,361	219	96	0,835	0,035	0,870
12-18 — —	67	»	0,468	0,468	6,5	1,5	8,675	0,402	221	94	0,815	0,038	0,853
19-25 — —	67	»	0,459	0,459	6,5	1,5	8,543	0,412	224	98	0,837	0,040	0,877
26-1 fév. —	67	»	0,455	0,455	6,5	1,5	8,722	0,341	218	96	0,837	0,033	0,870
2-8 — —	67	»	0,473	0,473	6,5	1,5	8,702	0,363	219	99	0,861	0,036	0,897
9-15 — —	67	»	0,468	0,468	6,5	1,5	8,716	0,375	219	96	0,837	0,036	0,873
16-22 — —	67	»	0,465	0,465	6,5	1,5	8,742	0,384	262	56	0,490	0,022	0,512
23-1er mars —	67	»	0,447	0,447	7,5	1,5	9,211	0,380	248	69	0,636	0,026	0,662
2-8 — —	67	»	0,453	0,453	7,5	1,5	9,784	0,398	233	87	0,851	0,035	0,886
9-15 — —	67	»	0,455	0,455	7,5	1,5	9,774	0,405	234	81	0,792	0,033	0,825
16-22 — —	67	»	0,453	0,453	7,5	1,5	9,742	0,412	235	81	0,789	0,033	0,822
23-29 — —	67	»	0,451	0,451	7,5	1,5	9,715	0,417	236	81	0,787	0,034	0,821
30-5 avril —	67	»	0,449	0,449	7,5	1,5	9,794	0,375	233	87	0,852	0,033	0,885
6-12 — —	67	»	0,460	0,460	7,5	1,5	9,831	0,352	231	89	0,875	0,031	0,906
13-19 — —	67	»	0,466	0,466	7,5	1,5	9,802	0,357	232	86	0,843	0,031	0,874
20-26 — —	67	»	0,465	0,465	7,5	1,5	9,782	0,376	272	44	0,430	0,017	0,447
27-3 mai —	67	»	0,445	0,445	8,5	1,5	10,263	0,351	258	64	0,657	0,022	0,679
4-10 — —	67	»	0,457	0,457	8,5	1,5	10,830	0,415	245	76	0,825	0,032	0,855
11-17 — —	67	»	0,446	0,446	8,5	1,5	10,847	0,406	245	75	0,814	0,030	0,844
18-24 — —	67	»	0,448	0,448	8,5	1,5	10,822	0,413	245	72	0,779	0,030	0,809
25-31 — —	67	»	0,446	0,446	8,5	1,5	10,868	0,374	243	73	0,793	0,027	0,820
1er-7 juin —	67	»	0,447	0,447	8,5	1,5	10,928	0,365	242	79	0,863	0,029	0,892
8-14 — —	67	»	0,459	0,459	8,5	1,5	10,814	0,418	246	75	0,811	0,031	0,842
15-21 — —	67	»	0,445	0,445	8,5	1,5	10,841	0,402	245	73	0,791	0,029	0,820
22-28 — —	67	»	0,449	0,449	8,5	1,5	10,822	0,380	»	320	3,463	0,122	3,585
Totaux . . .	»	0,328	21,106	21,106	»	»	»	»	»	»	37,108	1,461	38,569

d'azote ammoniacal, ce qui correspond, pour cette période, à un rendement de 88,8 p. 100. Le même calcul, appliqué aux périodes d'arrosage avec la solution à 6 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, donne pour le rendement dans ces périodes le chiffre de 88,5 p. 100. Pour les périodes d'arrosage avec la solution à 7 gr. 5 d'azote nitrique et à 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, le chiffre du rendement ainsi calculé est de 87,5 p. 100. Enfin pour les périodes d'arrosage avec la solution à 8 gr. 5 d'azote nitrique et à 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, on trouve de même 85 p. 100.

Il semble donc que le rendement à la transformation s'abaisse un peu quand on élève la concentration en nitrate. Mais nous estimons qu'il n'y a pas là une règle générale, car nous avons vu, pour la case 4, qu'on pouvait obtenir un rendement de plus de 87 p. 100 avec des solutions beaucoup plus concentrées, lorsque le rendement avec les solutions étendues, calculé par la méthode, donnait 86,3 p. 100. Nous verrons plus loin que nous avons obtenu, avec la case 7, des résultats analogues.

Case n° 7. — Cette case, chargée de pouzzolanes de Gravenoire, a été mise en route de la même manière que la précédente. La seule différence a été dans l'alimentation en sel ammoniacal qui a été faite avec une solution de nitrate d'ammoniaque provenant de la double décomposition d'une partie de la solution écoulée de cette case, par le sulfate d'ammoniaque au lieu du sesquicarbonate d'ammoniaque employé pour la case 6. Les résultats au début ont été très voisins de ceux de la case précédente. L'affusion de 120 litres par mètre cube de tourbe et par jour a été maintenue cinq semaines, puis elle a été réduite à 80 litres par suite de l'augmentation progressive de l'azote ammoniacal restant. En général, la marche de cette case a été assez régulière et satisfaisante, mais moins bonne cependant que celle de la case 6. La double décomposition par le sulfate d'ammoniaque donne donc des résultats inférieurs à la double décomposition par le sesquicarbonate d'ammoniaque, probablement à cause de la grande quantité de sulfate de chaux qui entre en solution et vient cristalliser, par évaporation lente, sur les grains du support.

Après deux mois de fonctionnement avec une solution

d'arrosage à 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, on a élevé progressivement le titre en azote nitrique de cette case, en faisant sans cesse repasser les liquides écoulés, après addition d'une nouvelle dose de nitrate d'ammoniaque pour ramener toujours à 1 gr. 5 par litre la teneur en azote ammoniacal du liquide d'arrosage. Le titre de la solution d'arrosage a été ainsi élevé à 18 grammes d'azote nitrique et à 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre. La moyenne des solutions écoulées pendant une période de fonctionnement d'un mois a été de 21 gr. 644 d'azote nitrique et de 0 gr. 444 d'azote ammoniacal par litre, sous un volume moyen de 320 litres par période de débit d'un bac de 365 litres de solution d'arrosage. Le liquide ramené au volume primitif de 365 litres titrerait donc 18 gr. 976 d'azote nitrique et 0 gr. 389 d'azote ammoniacal par litre. Donc 0 gr. 976 d'azote nitrique ont été formés au moyen de 1 gr. 5 — 0 gr. 389 = 1 gr. 111 d'azote ammoniacal, ce qui correspond à un rendement de 87,8 p. 100. Les solutions écoulées titraient près de 13 p. 100 de nitrate de chaux.

La marche de cette nitrière a été arrêtée, au moment de l'armistice, après un fonctionnement de plus de quinze mois.

Des analyses des atmosphères intérieures de cette nitrière de pouzzolanes ont été effectuées comme sur la case tourbeuse n° 4. Le taux de l'acide carbonique dans les couches les plus profondes a varié entre 0,22 et 0,32 p. 100 et la teneur en oxygène a varié de 20,6 à 20,9 p. 100. L'atmosphère interne de ces nitrières de pouzzolanes se renouvelle donc parfaitement comme celle des nitrières tourbeuses, bien que les grains du support soient beaucoup plus fins.

4° Conclusions relatives aux essais semi-industriels.

Les essais semi-industriels que nous venons de décrire permettent de tirer les conclusions suivantes :

1° La marche industrielle continue et prolongée des nitrières à tourbe ou à pouzzolane est parfaitement réalisable, à condition de ne pas chercher à exagérer la production par une alimentation que les appareils ne peuvent pas supporter longtemps.

2° Toutes les conclusions que nous avons formulées dans

notre premier mémoire ont été vérifiées par nos expériences semi-industrielles. La marche a été la même en grand qu'en petit.

3° La mise en marche doit avoir lieu lentement, d'après les méthodes que nous avons indiquées ; les affusions doivent être progressivement réduites au fur et à mesure que le titre en nitrate de chaux s'élève et elles ne doivent pas dépasser pratiquement, en marche courante et prolongée, 80 litres par mètre cube de support avec une solution d'arrosage renfermant 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. Encore cette affusion laisse-t-elle, dans les conditions les plus favorables, 20 à 25 p. 100 de l'azote ammoniacal non oxydé. Des affusions de 60 litres seraient certainement préférables. Avec des solutions d'arrosage beaucoup plus concentrées en nitrate de chaux, l'affusion journalière ne doit même pas dépasser 50 litres par mètre cube de support et par jour, en marche industrielle prolongée.

4° Si ces conditions d'affusions réduites sont réalisées, la marche des nitrières est extrêmement régulière ; elle peut être prolongée très longtemps, et on peut obtenir des liquides titrant 11 à 13 p. 100 de nitrate de chaux, par arrosage avec des solutions renfermant 15 à 18 grammes d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, la concentration par évaporation dans le passage dans la nitrière étant environ de 12 p. 100. La marche industrielle ressemble alors beaucoup à celle de l'oxydation de l'alcool dans une fabrique de vinaigre par le procédé allemand.

5° Le rendement pratique à la transformation de l'azote ammoniacal en azote nitrique est environ de 87 à 88 p. 100.

6° Dans ces conditions, on peut obtenir par mètre cube de support environ 50 grammes d'azote nitrique par jour, soit environ 286 grammes de nitrate d'ammoniaque ou 293 grammes de nitrate de chaux. Une *nitrière d'un hectare, sous une épaisseur de lit de* 1 *m.* 80, *soit* 18.000 *mètres cubes, donnerait donc par vingt-quatre heures un peu plus de cinq tonnes de nitrate d'ammoniaque ou de nitrate de chaux. Ce chiffre représente environ la dix-huitième partie du chiffre qu'on aurait pu déduire des expériences de laboratoire de Muntz et Lainé* (*quatre-vingt-dix tonnes de nitrate par hectare et par jour*). La question se

présente donc, au point de vue industriel, sous un jour beaucoup moins favorable que ces expériences pouvaient le faire supposer et elle perd de ce fait beaucoup de son intérêt.

7° La tourbe donne de moins bons résultats que les pouzzolanes, surtout dans la mise en route. Quand les appareils sont en plein fonctionnement, les deux supports sont à peu près équivalents, avec un léger avantage en faveur des pouzzolanes. Mais les solutions obtenues sont rouges et troubles avec la tourbe, incolores et très belles avec les pouzzolanes. Si nous ajoutons à ces observations celles que nous avons faites dans notre premier mémoire au sujet des difficultés de manutention de la tourbe et d'établissement des lits, il apparaît nettement que pour la constitution des nitrières les pouzzolanes sont beaucoup plus avantageuses que la tourbe.

8° L'alimentation en sel ammoniacal peut se faire avec le liquide provenant de la double décomposition de la solution nitrifiée de nitrate de chaux par le sulfate ou le sesquicarbonate d'ammoniaque. Mais, en dehors des avantages que présente le sesqui-carbonate d'ammoniaque pour la régénération continuelle du calcaire indispensable, l'expérience semi-industrielle montre que la marche est meilleure avec l'emploi du sesquicarbonate d'ammoniaque, très probablement à cause de la suppression de l'encrassement que le sulfate de chaux produit peu à peu dans les lits. Tous les avantages sont donc en faveur de la marche au sesqui-carbonate d'ammoniaque.

9° L'air se renouvelle très facilement à l'intérieur des nitrières : leur atmosphère interne renferme toujours assez d'oxygène pour que la nitrification puisse s'y exercer normalement.

5° Méthodes de réalisation industrielle et aperçu économique.

Les études qui précèdent permettent de donner un aperçu économique du fonctionnement d'une installation industrielle basée sur les résultats obtenus.

On peut compter travailler avec des solutions d'arrosage renfermant 18 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, en donnant des affusions de 50 litres par mètre

cube de pouzzolanes et par jour. Dans ces conditions, l'azote ammoniacal restant se tiendra aux environs de 0 gr. 32 par litre dans le liquide nitrifié, supposé ramené à son volume primitif. On oxydera donc par mètre cube et par jour $1,18 \times 50 = 59$ grammes d'azote ammoniacal. Le rendement à la transformation étant, comme nous l'avons vu, de 87 à 88 p. 100, on peut admettre, pour tenir compte des pertes ultérieures d'extraction, un rendement de 85 p. 100 à la production finale. La nitrière livrera donc environ 50 grammes d'azote nitrique par mètre cube et par jour, soit en chiffres ronds 285 grammes de nitrate d'ammoniaque. Pour une production de dix tonnes de nitrate d'ammoniaque par jour, il faudra donc compter sur 36.000 mètres cubes de supports.

On formera donc, au moyen de pouzzolanes et par la méthode indiquée pour les cases, des lits nitrificateurs circulaires de 15 mètres de diamètre sur 1 m. 80 de hauteur, ce qui correspond à un volume de 318 mètres cubes. Il faudra 114 appareils semblables pour arriver à la production voulue, mais il vaut mieux compter sur 125 appareils pour prévoir l'arrêt momentané de certains d'entre eux.

Ces appareils couvriront une superficie de 5 hectares, passages compris : ils devront être placés dans des hangars fermés et maintenus par chauffage à une température voisine de 28°. Chaque appareil sera alimenté par un Sprinkler.

Étudions le fonctionnement d'un de ces appareils en marche continue, ce qui nous permettra d'appliquer ensuite les chiffres à l'installation entière.

L'appareil recevra $318 \times 50 = 15.900$ litres par vingt-quatre heures d'une solution à 18 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre. A raison d'une chasse par heure, chaque chasse comprendra $\frac{15.900}{24} = 662$ l. 5. Si la durée de l'écoulement est de deux minutes, le Sprinkler débitera $\frac{662,5}{2} = 331$ l. 25 à la minute ou 5 l. 52 à la seconde, ce qui est parfaitement réalisable. L'arrosage par mètre carré de surface et par chasse sera de $\frac{662,5}{176,5} = 3$ l. 75, ce qui peut convenir.

En comptant une évaporation de 10 p. 100 pendant le pas-

sage dans la nitrière et un rendement de 89 p. 100 à la transformation, il s'écoulera par jour, de la nitrière, 14.310 litres de liquide nitrifié titrant 21 gr. 72 d'azote nitrique et 0 gr. 355 d'azote ammoniacal, qu'on enverra au bac de liquides nitrifiés. Il sortira donc de la nitrière $21,72 \times 14,310 = 310$ kg. 8 d'azote nitrique et $0,355 \times 14,310 = 5$ kg. 08 d'azote ammoniacal par vingt-quatre heures.

On doit reconstituer 15.900 litres de liquide d'arrosage à 18 kg. 5 d'azote nitrique et 1 kg. 5 d'azote ammoniacal par mètre cube, par addition de nitrate d'ammoniaque provenant de la double décomposition de la solution de nitrate de chaux par le sesquicarbonate d'ammoniaque.

On aura, en désignant par V le volume à reprendre sur le liquide écoulé et par c les quantités d'azote nitrique et d'azote ammoniacal (ces deux quantités sont égales), à ajouter sous forme de nitrate d'ammoniaque :

$$15,9 \times 18,5 = V \times 21,72 + c.$$
$$15,9 \times 1,5 = V \times 0,355 + c.$$

On en tire :

$$V = 12 \text{ m. c. } 65 \text{ et } C = 19 \text{ kilogr. } 35.$$

Pour chaque chasse, on prélèvera donc $\frac{12.650}{24} = 527$ litres du bac à liquide nitrifié, le reste sera constitué par de l'eau et de la solution de nitrate d'ammoniaque, de manière à reconstituer le volume de 662 l. 5 de chaque chasse.

La partie envoyée à la double décomposition sera représentée par $14.310 - 12.650 = 1.660$ litres renfermant $1.660 \times 21,72 = 36$ kg. 055 d'azote nitrique et $1.660 \times 0,355 = 0$ kg. 589 d'azote ammoniacal. Pour la double décomposition, il faudra donc ajouter théoriquement $36,055 - 0,589 = 35$ kg. 466 d'azote ammoniacal, soit $\frac{35,466 \times 127}{28} = 160$ kg. 86 de sesquicarbonate d'ammoniaque par vingt-quatre heures. Cette quantité sera ajoutée directement dans le bac de double décomposition.

Nous devrons reprendre, sur la partie inférieure, précipitée, tout le calcaire, 19 kg. 35 d'azote ammoniacal et 19 kg. 35

d'azote nitrique, ce qui constituera sensiblement un volume de 900 litres. Ces 900 litres, divisés en 24 chasses, donnent pour chaque chasse environ 38 litres de solution.

Pour reconstituer les 662 lit. 5 de chaque chasse, on aura donc : 527 litres du bac à liquides nitrifiés, 38 litres du bac de double décomposition, contenant le calcaire régénéré, et le reste sera constitué par de l'eau.

Il restera, pour la production, dans la partie supérieure claire du bac de double décomposition 36,055 — 19,35 = 16 kg. 705 d'azote nitrique et 16 kilogr. 705 d'azote ammoniacal correspondant à 95 kilogr. 46 de nitrate d'ammoniaque, soit à 90 kilogrammes en chiffres ronds en tenant compte de la perte de rendement à l'extraction.

Le volume de liquide à évaporer sera donc de 1.660 — 900 lit., soit 760 litres par vingt-quatre heures.

La consommation d'eau pour la reconstitution du liquide d'arrosage sera sensiblement de 100 litres par chasse, soit 2 m. c. 4 par vingt-quatre heures.

Ces données nous permettent de dresser de la façon suivante le projet d'installation industrielle pour une production de 10 tonnes de nitrate d'ammoniaque par jour.

Nombre de lits de 15 mètres de diamètre : 125. — On les alimentera par groupes de 25 : il y aura donc 5 groupes.

Bacs de chasses. — 5 bacs de chasses, à agitateurs, alimentant chacun une série de 25 Sprinklers. Chacun de ces bacs répartira par chasse 662 × 25 = 16 m. c. 56, le remplissage se faisant en cinquante minutes et la chasse en deux minutes, ce dernier chiffre représentant un écoulement de 138 litres à la seconde. On disposera donc 5 bacs de 20 mètres cubes, alimentés à la fois par les bacs à liquides nitrifiés, les bacs de double décomposition et les baches à eau.

Bacs a liquides nitrifiés. — Il s'écoulera par vingt-quatre heures, des 114 appareils en fonctionnement, 1.631 mètres cubes de liquide nitrifié. On prendra donc 2 bacs de 1.800 mètres cubes, avec agitateurs où se réuniront alternativement les liquides du jour et ceux du jour suivant. Ces bacs, carrés,

pourraient avoir 10 mètres de profondeur sur 13 m. 50 de côté; l'un d'eux servirait à l'alimentation des bacs de chasse et des bacs de double décomposition, tandis que l'autre se remplirait.

Bacs de double décomposition. — Ces bacs recevront par jour 189 mètres cubes de liquide nitrifié. On prendra 2 bacs de 250 mètres cubes, pour permettre le dépôt et le prélèvement alternatifs. Leur forme sera légèrement conique pour l'évacuation du carbonate de chaux précipité : ils porteront au milieu une prise pour l'évacuation du liquide clair et seront munis d'un agitateur à descente progressive. Ces bacs seront alimentés par les bacs à liquide nitrifié. Dès qu'un bac sera plein, il subira la précipitation par le sesquicarbonate d'ammoniaque; le liquide clair constituant la production sera envoyé à l'évaporation ; le liquide restant, agité pour mettre le carbonate de chaux en suspension, servira pour reconstituer les chasses. Pendant ce temps, le second bac recevra les liquides à décomposer venant des nitrières.

Baches a eau. — Il faudra 273 mètres cubes par vingt-quatre heures, plus les lavages : on prendra 2 bâches de 75 mètres cubes pour un volant d'environ douze heures.

Appareil a évaporer. — On aura à évaporer $760^{l} \times 114^{l}$ = 86 m. c. 64 d'eau par jour. Il faudra donc un appareil susceptible d'évaporer 100 mètres cubes par vingt-quatre heures correspondant à un triple effet d'une sucrerie de 100 tonnes de betteraves par jour (120 mètres carrés de surface environ).

Surface totale nécessaire. — Il faudra 5 hectares pour les nitrières, 1.000 mètres carrés pour le bâtiment des bacs de chasse, de liquide nitrifié, de double décomposition et les bâches à eau, 8.000 mètres carrés pour les hangars, magasins, salles de machines et de pompes, salles d'évaporation et de cristallisation, 2 hectares pour les cours, dégagements, laboratoire, bureaux, etc. Total, environ 8 hectares.

Volant de carbonate d'ammoniaque et de carbonate de chaux pour le chargement. — Le liquide en circulation représentera

15,9 × 114 = 1.812 mètres cubes à 20 kilogrammes d'azote total, soit 36.240 kilogrammes d'azote ou 164.000 kilogrammes de carbonate d'ammoniaque.

Le liquide d'imbibition des appareils, à raison de 200 litres par mètre cube de pouzzolanes, représentera 0,2 × 36.000 = 7.200 mètres cubes à 20 kilogrammes d'azote, soit 144.000 kilogrammes d'azote ou 653.000 kilogrammes de carbonate d'ammoniaque.

Le total donne 817.000 kilogrammes *pour le volant* de carbonate d'ammoniaque. C'est une fraction considérable du capital à engager.

Enfin le volant de calcaire à introduire dans les litres représentera, à raison de 16 kilogrammes par mètre cube de support, 576.000 kilogrammes de blanc de Meudon.

Ces éléments permettent de donner un aperçu économique du fonctionnement d'une telle installation.

Le capital nécessaire peut être évalué à 3 millions pour le terrain et les bâtiments, 700.000 francs pour la pouzzolane (36.000 mètres cubes à 20 francs) et 1 million pour le volant de carbonate d'ammoniaque et de craie, soit 5 millions en chiffres ronds.

Evaluons d'autre part les frais d'exploitation. La main-d'œuvre demandera, en dehors de la direction, un chimiste chef de fabrication, 2 contremaîtres et 20 hommes. On peut donc évaluer les salaires à 600 francs par jour.

Les 86 m. c. 64 d'eau à évaporer par jour demanderont, en triple effet, à raison de 1 kilogramme de vapeur par 2 kilogr. 85 d'eau vaporisée, environ 30.000 kilogrammes de vapeur ou 4.000 kilogrammes de charbon, soit 400 francs en comptant le charbon à 100 francs la tonne (1). Le chauffage des nitrières et la force motrice (moteur à vapeur de 60 chevaux) consommeront sensiblement une quantité égale.

Nous arrivons donc à 800 francs de charbon par vingt-quatre heures. Les frais généraux et les frais divers peuvent être évalués à 100 p. 100 des salaires, soit 600 francs par jour.

(1) Ce chiffre correspond à une vaporisation de 7 kilogr. 5 par kilogramme de charbon qu'il serait bien difficile d'obtenir dans les conditions actuelles. Nous nous plaçons donc dans des conditions très favorables.

Le total des frais d'exploitation se monterait donc à 2.000 fr. par jour, pour une production de 10 tonnes de nitrate d'ammoniaque, soit 200 francs à la tonne.

Il est évident que si nous envisageons l'utilisation, pour la production du nitrate, de l'azote ammoniacal provenant des sels ordinairement vendus comme engrais sur le marché, l'opération, au point de vue commercial, serait irréalisable. Le kilogramme d'azote nitrique se vend en effet, dans les engrais, sensiblement au même prix que le kilogramme d'azote ammoniacal. Or notre nitrate biologique serait grevé de 200 francs de frais à la tonne et de la perte de rendement à la transformation et à l'extraction, c'est-à-dire de 15 kilogrammes de nitrate pour 85 kilogrammes de nitrate produit. Le prix de revient serait donc forcément supérieur au prix de vente du produit sur le marché. Par exemple, nous avons vu que l'alimentation en carbonate d'ammoniaque, pour une production de 10 tonnes de nitrate d'ammoniaque par jour, demanderait 160 kilogr. 86 $\times$ 114 = 18.338 kilogrammes de carbonate d'ammoniaque par vingt-quatre heures. En comptant le kilogramme d'azote à 5 francs, soit le carbonate d'ammoniaque à 1.100 francs la tonne, on aurait une dépense de 20.000 francs environ par tonne de nitrate d'ammoniaque produit. Le nitrate reviendrait donc à 2.200 francs la tonne, sans compter l'intérêt du capital engagé et l'amortissement. Or le nitrate d'ammoniaque, chimiquement pur, compté à 5 francs le kilogramme d'azote, coûterait 1.750 francs, le cours actuel du nitrate d'ammoniaque ordinaire à 32-34 p. 100 d'azote étant de 1.600 francs.

Ainsi envisagée, la méthode ne pourrait être rangée que parmi les nombreux procédés, nés de la guerre, dans lesquels la nécessité de produire coûte que coûte faisait laisser de côté les considérations relatives au prix de revient. Elle serait parfaitement réalisable dans ces conditions et aurait pu présenter de l'intérêt, en l'absence de réapprovisionnements suffisants en nitrate naturel.

Il faudrait, pour que la fabrication soit commercialement possible par cette méthode, utiliser de l'ammoniaque synthétique, de manière à obtenir du carbonate d'ammoniaque dont le kilogramme d'azote ne dépasserait pas, par exemple, le prix de 3 francs à 3 fr. 25 dans les conditions économiques

actuelles. Ce serait d'ailleurs le seul moyen de se procurer en quantités suffisantes le carbonate d'ammoniaque, car ce sel n'est pas un produit industriel courant. On arriverait alors à produire du nitrate de chaux ou du nitrate d'ammoniaque à un prix qui pourrait rivaliser avec les prix commerciaux actuels. Mais il n'est pas du tout démontré que la transformation de cette ammoniaque synthétique en nitrate d'ammoniaque par les procédés chimiques modernes, électriques ou catalytiques, ne serait pas plus économique que son oxydation par voie biologique. Il est même très probable qu'il en serait ainsi.

Il n'en était pas moins utile de fixer d'une façon précise les possibilités industrielles de fabrication des nitrates par voie microbienne. On voit qu'elles sont beaucoup plus réduites que les travaux de Müntz et Lainé pouvaient le faire espérer.

Ces études ont été faites à l'Institut Pasteur, dans le service de M. le Dr Louis Martin, qui a bien voulu mettre à ma disposition, avec la plus grande bienveillance, toutes les ressources nécessaires pour les mener jusqu'à leur terme. Qu'il veuille accepter ici l'expression sincère de ma reconnaissance.

ÉTUDE SUR LA FLOCULATION DES EXTRAITS ALCOOLIQUES D'ORGANES PAR LES SÉRUMS NORMAUX ET LES ANTISÉRUMS

par E. CÉSARI.

On sait que les cellules et les humeurs organiques ne constituent généralement pas des entités antigènes simples, mais bien des assemblages d'éléments antigènes variés et diversement combinés (1). On sait aussi que des éléments antigènes identiques peuvent se rencontrer à la fois dans des cellules ou des humeurs d'origines différentes.

Injectées à des sujets d'une espèce étrangère à celle dont elles proviennent, cellules et humeurs doivent théoriquement provoquer, chez eux, la formation d'une série d'anticorps correspondant à la série des antigènes élémentaires contenus dans les cellules ou humeurs administrées. C'est ainsi que des antisérums préparés à l'aide de cellules ou d'humeurs de provenances diverses, mais possédant, parmi leurs constituants antigènes, un élément identique, peuvent renfermer, à côté des anticorps spéciaux répondant au groupe des antigènes particuliers à chacune de ces cellules ou de ces humeurs, un anticorps semblable répondant à l'élément antigène qui leur est commun.

Citons quelques exemples de ces communautés d'antigènes (2).

Le sérum des cobayes traités par des globules rouges de mouton acquiert des propriétés hémolytiques à l'égard des globules de mouton et des globules de bœuf. Réciproquement, le sérum des cobayes traités par des globules rouges de bœuf acquiert des propriétés hémolytiques à l'égard des globules de bœuf et des globules de mouton. Hématies de mouton et héma-

(1) M. Nicolle, *Les antigènes et les anticorps*. Masson et Cie, édit. Paris, 1920.

(2) M. Nicolle et E. Césari, Etudes sur la toxicité et l'hémotoxicité des sérums normaux et des antisérums. *Journ. de Physiol. et de Pathol. gén.*, juillet et septembre, 1914.

ties de bœuf possèdent, par conséquent, un élément antigène commun.

Le sérum des lapins traités par du sérum de mouton donne lieu à la formation d'un précipité lorsqu'il est mélangé à du sérum de mouton ou à du sérum de bœuf. Réciproquement, le sérum des lapins traités par du sérum de bœuf donne lieu à la formation d'un précipité lorsqu'il est mélangé à du sérum de bœuf ou à du sérum de mouton. Sérum de mouton et sérum de bœuf possèdent, par conséquent, un élément antigène commun.

Le sérum des lapins traités soit par des hématies ou du sérum de mouton, soit par des cellules du rein, de la rate ou du testicule de cobaye, soit par des cellules du rein de cheval ou de poule, acquiert un pouvoir hémolytique marqué vis-à-vis des globules rouges de mouton. Ces diverses cellules paraissent donc toutes contenir un élément antigène identique; c'est le fameux antigène Forssman dont nous allons, pour la clarté de notre exposé, résumer ici brièvement l'histoire.

En 1911, Forssman signale que si l'on injecte une émulsion de cellules provenant des organes du cobaye (rein, foie ou testicule) dans le péritoine du lapin, le sérum de l'animal traité devient fortement hémolytique à l'égard des globules de mouton. Les antisérums ainsi obtenus sont inactivés par le chauffage à 56° et réactivés par addition de complément de cobaye. L'anticorps hémolytique engendré par les cellules du rein de cobaye est fixé aussi bien par les cellules du rein de cobaye que par les hématies de mouton.

Les cellules des organes de cheval et de chat provoquent également, chez le lapin, l'apparition d'un anticorps hémolytique pour les hématies de mouton. Tous les antisérums préparés, chez le lapin, à l'aide de cellules des organes de cobaye et de cheval, ou à l'aide de globules rouges de mouton se montrent fortement toxiques pour le cobaye. Ces sérums ne sont pourtant pas hémolytiques pour les globules rouges de cet animal et ne précipitent pas en présence de son sérum.

Sans nous étendre sur les nombreux travaux (1), dont l'an-

(1) Cf. : J. Forssman, Die Herstellung hochwertiger spezifischer Schafhämolysine ohne Verwendung von Schafblut. *Biochem. Zeitsch.*, **37**, 1911. — J. Forssman et A. Hintze, Die heterologe Toxizität der Antisera. *Biochem. Zeitsch.*, **44**, 1912. — R. Doerr et F. Weinfurter, Die primäre Toxizität der

tigène Forssman — qui sera désigné abriévativement désormais par l'initiale F — a fait l'objet depuis, nous rappellerons les principales notions actuellement acquises à son sujet.

Outre les hématies de mouton, les organes de cobaye, de cheval et de chat, l'antigène F a été rencontré dans les hématies de chèvre, le sérum de mouton, les organes de chien, de souris, de poule, de tortue, dans les branchies du brochet, de la carpe, de la tanche. On peut le déceler également dans des cellules microbiennes (pneumocoque).

L'antigène F ne se trouve pas dans les organes de l'homme, du bœuf, du porc, du lapin, du rat, du pigeon.

Seules les espèces dépourvues de l'antigène F (lapin, rat,...) fournissent des sérums hémolytiques pour les globules de mouton et toxiques pour le cobaye. Seules les espèces dont les cellules renferment l'antigène F (cobaye, poule,...) sont sensibles à l'action toxique des antisérums actifs.

Les propriétés antipoïétiques de l'antigène F ne sont pas abolies par le chauffage (120°) et ne sont pas détruites par l'action de l'alcool. On peut extraire l'antigène F des cellules qui le contiennent par broyage et macération dans l'eau physiologique ou dans l'alcool fort.

On voit, par ce court aperçu, que l'antigène F présente, en plus de son ubiquité remarquable, deux particularités, résistance à la chaleur et solubilité dans l'alcool, qui lui assignent une place à part dans le monde des antigènes. S'agit-il là d'un antigène au sens étroit du mot? S'agit-il d'un antigène tout à fait exceptionnel, ou existe-t-il, dans les tissus organiques, d'autres éléments antigènes de même ordre?

On remarquera que la découverte de l'antigène F est due, pour une grande part, à une circonstance fortuite : sa présence dans les hématies de mouton. Rien n'interdit de supposer que des antigènes de la même sorte puissent siéger dans d'autres

Antieiweissera. *Centralbl. f. Bakter.* I. Orig., **63**. — Forssman et Fex, Ueber heterologe Antisera, *Biochem. Zeitsch.*, **61**, 1914. — Doerr et Pick, Untersuchungen über ein für die Art nicht spezifisches eiweissantigen zellulären Ursprungs. *Biochem. Zeitsch.*, **60**, 1914. — M. Nicolle et E. Césari. *Loc. cit.* — J. Forssman, Ueber die Identität oder Verschiedenheit gleichwirkender hämolytischer Antigene in einigen durch Verwandtschaftsreaktionen verbundenen Blutarten. *Biochem. Zeitsch.*, **77**, 1916. — E. Friedberger et K. Suto, Ueber heterogenetische Antigene und Antikörper. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, I. Orig., **28**, 1919.

tissus, sans coexister nécessairement dans des globules rouges. Dans ce cas, leur existence risquera fort, semble-t-il, de passer inaperçue. Mais Sachs et Guth (1) ont montré récemment que le sérum des lapins traités par des cellules possédant l'antigène F donnait lieu à un phénomène de floculation lorsqu'il était mis en présence, *in vitro*, d'un extrait alcoolique préparé avec un organe contenant ledit antigène. Pour les auteurs allemands, la précipitation des globulines de l'antisérum, accusée par la floculation qui se produit au contact des lipoïdes de l'extrait, serait due à la conjugaison de l'anticorps et de l'antigène F. S'il en est ainsi, le caractère spécifique de la réaction devrait fournir un moyen, d'application générale, pour dépister les antigènes solubles dans l'alcool. C'est un point que nous avons voulu vérifier.

Dans les expériences rapportées ci-après, nous nous sommes donc proposé de voir si le phénomène de la séro-floculation était capable de révéler des réactions électives entre des antisérums obtenus à l'aide de différents organes et les extraits alcooliques de ces organes et de divers autres, pris chez plusieurs espèces animales. Subsidiairement, nous avons cherché à nous rendre compte si ces réactions offraient réellement un caractère spécifique et, dans l'affirmative, si cette spécificité se rapportait à l'interaction d'un antigène et d'un anticorps.

En plus de l'intérêt qu'elles pouvaient éventuellement présenter au point de vue de l'étude des communautés d'antigènes dans les tissus, ces recherches devaient acquérir ainsi une portée plus étendue en ce qu'elles se rattachaient à deux questions placées à l'ordre du jour des sciences biologiques : celle de la fonction antigène des lipoïdes et celle du mécanisme de la séro-floculation, en jeu, comme on sait, dans les réactions diagnostiques de la syphilis.

Le choix des matériaux (espèces animales et organes) utilisés dans cette étude nous a été dicté par une considération d'ordre pratique : l'application de la méthode à la répression des fraudes (Identification des viandes dans les mets préparés ou les produits de charcuterie soumis à la cuisson). Nous avons

(1) Sachs et F. Guth, Eine spezifische Ausflockungsreaktion zum Nachweis der alkohollöslichen Receptoren des Hammelblutes und ihrer Antikörper. *Medizinische Klinik*, 8 février 1920.

donc employé systématiquement, en raison de ce but, les tissus des espèces animales de boucherie : cheval, bœuf, porc et mouton. Pour ne pas compliquer démesurément nos expériences, nous avons dû nous borner à préparer les antisérums, pour chacune de ces espèces, avec le sang, le foie et la rate. Tous les antisérums ont été obtenus chez le lapin, suivant la technique décrite ci-après.

Préparation des antisérums. — Des lapins de 1.800 à 2.000 grammes reçoivent, trois jours de suite, dans le péritoine, 10 cent. cubes de sang défibriné ou d'une émulsion d'organe. Ils sont saignés, par voie carotidienne, six jours après la dernière injection.

Les émulsions d'organes étaient préparées avec du tissu prélevé aseptiquement dans l'organe frais, lavé plusieurs fois à l'eau physiologique, broyé finement au mortier et passé sur étamine. On diluait 5 grammes de tissu frais dans 30 cent. cubes d'eau physiologique.

Les sérums étaient chauffés à 55° pendant une demi-heure.

Par ce que l'on connaît sur l'antigène F, il était indiqué de rechercher, tout d'abord, si les sérums ainsi obtenus jouissaient de propriétés hémolytiques vis-à-vis de certains globules. Nous avons donc titré leur pouvoir hémolysant à l'égard des globules rouges de cheval, de bœuf, de porc et de mouton. Nous avons recherché parallèlement le pouvoir précipitant éventuel des antisérums vis-à-vis des sérums normaux des dites espèces. Ces épreuves préliminaires ont été faites d'après les techniques suivantes.

Titrage du pouvoir hémolytique. — On verse, dans une série de tubes contenant 1 cent. cube d'une suspension globulaire au 1/20, 0 c. c. 025 de complément frais de cobaye et des quantités décroissantes d'antisérum (0 c. c. 1 — 0 c. c. 01 — 0 c. c. 001 — 0 c. c. 0001). On lit le résultat après une heure de séjour à l'étuve à 37°.

Titrage du pouvoir précipitant (Méthode indirecte). — On verse, dans une série de tubes contenant 1 cent. cube de l'antisérum, des quantités décroissantes de sérum normal (0 c. c. 1 — 0 c. c. 01 — 0 c. c. 001) diluées dans 1 cent. cube d'eau physiologique. On mélange et on lit le résultat après vingt-quatre heures de séjour à la température du laboratoire.

Les résultats de ces différents titrages sont inscrits dans le tableau I. *Les chiffres marquent la limite de la réaction. Le signe* 0 *indique l'absence de réaction avec* 0,1 *cent. cube d'antisérum (hémolyse) ou de sérum normal (précipitation).*

TABLEAU I.

ANTISÉRUM OBTENU avec du tissu de		POUVOIR HÉMOLYTIQUE VIS-A-VIS DES GLOBULES DE				POUVOIR PRÉCIPITANT VIS-A-VIS DES SÉRUMS DE			
		Cheval	Bœuf	Porc	Mouton	Cheval	Bœuf	Porc	Mouton
Cheval.	Sang. . .	10^{-3}	0	0	10^{-1}	10^{-3}	10^{-1}	0	0
	Foie. . .	10^{-1}	0	0	10^{-1}	10^{-2}	0	0	0
	Rate. . .	10^{-1}	0	0	10^{-3}	0	0	0	0
Bœuf. .	Sang. . .	0	10^{-3}	10^{-1}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-2}
	Foie. . .	0	10^{-1}	0	10^{-1}	0	10^{-1}	0	0
	Rate. . .	0	10^{-2}	0	10^{-2}	0	10^{-2}	0	10^{-1}
Porc. .	Sang. . .	0	0	10^{-2}	10^{-1}	0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-1}
	Foie. . .	0	0	10^{-1}	10^{-1}	0	0	10^{-2}	0
	Rate. . .	0	0	10^{-2}	10^{-2}	0	0	10^{-2}	0
Mouton	Sang. . .	0	10^{-2}	0	10^{-3}	10^{-1}	10^{-2}	0	10^{-2}
	Foie. . .	0	0	10^{-1}	10^{-2}	0	0	0	10^{-2}
	Rate. . .	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-3}	0	10^{-1}	0	10^{-2}

On a ensuite examiné comment se comportaient les antisérums à l'égard des extraits alcooliques de tissus homologues (sang, foie, rate) et de tissus hétérologues (muscle, cœur, poumon, cerveau, testicule, estomac ou panse, intestin) de cheval, de bœuf, de porc et de mouton, en employant la méthode de la séroflocculation. Nous avons étudié, parallèlement, l'action des sérums normaux de cheval, de bœuf, de porc, de mouton et, comme témoin des antisérums, du sérum normal de lapin, vis-à-vis de ces divers extraits. Voici la technique suivie.

PRÉPARATION DES EXTRAITS ALCOOLIQUES D'ORGANES. — On débite l'organe frais en petits fragments que l'on soumet à une cuisson de quinze minutes dans l'eau en ébullition. On rejette l'eau de cuisson et on lave les fragments à l'eau bouillante pour les débarrasser des matières grasses fondues. Après refroidissement, on sectionne les morceaux en minces lanières et on porte à l'étuve jusqu'à dessiccation. La matière sèche est broyée au mortier et la poudre obtenue est mise à macérer dans l'acétone, à l'étuve à 37°, pendant trois ou quatre jours, en prenant soin de renouveler l'acétone une, deux ou trois fois, selon la richesse présumée du tissu en matières grasses. On décante alors soigneusement le liquide. Le flacon contenant la poudre est laissé à l'étuve, débouché, pour faire évaporer le restant d'acétone. (La poudre de sang a été préparée en partant de sang défibriné, coagulé par ébullition.)

Pour obtenir l'extrait, on fait macérer la poudre dans de l'alcool à 96°-100°

pendant vingt-quatre heures, à la température ordinaire, en agitant le flacon à plusieurs reprises. On filtre sur papier; il passe une liqueur, citrine ou incolore, tout à fait limpide. Cette liqueur doit être utilisée dans les deux ou trois jours qui suivent sa préparation. [Tenant compte de la teneur variable des tissus en substances lipoïdes, nous avons employé : 1 partie de poudre pour 6 d'alcool dans la préparation des extraits de foie, de cerveau et de testicule — 1 partie 1/2 de poudre pour 6 d'alcool dans la préparation des extraits de muscle, de cœur, de poumon, de rate, d'estomac et d'intestin — 3 parties de poudre pour 6 d'alcool dans la préparation des extraits de sang.]

Pour servir aux expériences de floculation, les lipoïdes de l'extrait alcoolique doivent être mis en suspension colloïdale dans l'eau salée.

Préparation des émulsions. — On ajoute à 1 volume d'extrait alcoolique 4 volumes d'eau distillée et on laisse le mélange au repos pendant trois à quatre heures; on l'isotonise ensuite par addition d'une solution concentrée de sel marin. (Nous employons une solution de NaCl à 21 p. 100; cette solution est ajoutée au mélange, à raison d'une goutte par centimètre cube, au moyen d'une pipette débitant XX gouttes au centimètre cube.) On étend ensuite progressivement, s'il y a lieu, avec de l'eau physiologique (10 p. 1.000) jusqu'à obtention d'une émulsion légèrement opalescente.

Dans nos expériences, le degré diaphanométrique était réglé par comparaison avec une suspension étalon, obtenue en traitant 20 cent. cubes d'une dilution au 1/200e de sérum de cheval en eau physiologique, par 3 cent. cubes d'une solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100.)

Technique de la réaction. — On verse, dans une série de tubes à hémolyse, 1 cent. cube de l'émulsion et, à l'aide d'une pipette compte-gouttes, on laisse tomber dans chaque tube des quantités variables de sérum. On bouche les tubes, on les agite pour opérer le mélange et on les porte à l'étuve à 37°. On lit les résultats au bout de vingt-quatre et quarante-huit heures.

Lorsque la réaction est forte, elle commence à se manifester entre la 5e et la 8e heure, rarement plus tôt, et elle est généralement complète vers la 15e-20e heure. Si la réaction est faible, elle n'apparaît parfois qu'après vingt-quatre heures. Les fortes réactions se traduisent par la formation d'agglomérats floconneux qui restent en suspension dans le milieu tant que les tubes sont à l'étuve (ils se déposent par refroidissement); le liquide s'éclaircit dès le début de la réaction et devient, à la fin, limpide comme une eau de roche. Si la réaction est d'intensité moyenne, les masses floconneuses sont plus abondantes et moins volumineuses; elles flottent dans un liquide transparent. Enfin, quand la réaction est légère, on aperçoit un nombre considérable de très petits flocons uniformément répartis dans le milieu, lequel conserve alors une faible opalescence. Il va sans dire que, lorsque la réaction est négative, l'émulsion ne subit aucun changement. Dans tous les cas, l'interprétation des résultats est facile et ne prête à aucune équivoque.

Dans nos expériences, l'action des sérums et des antisérums a été éprouvée, vis-à-vis de chaque sorte d'émulsion, aux doses de 0,25 cent. cubes (V gouttes) et 0,15 cent. cubes (III gouttes).

Dans les tableaux suivants (II, III, IV et V), nous n'avons consigné que les résultats des essais pratiqués avec 0,25 cent. cubes de sérum, dose qui s'est toujours révélée la plus favorable à la manifestation de la floculation. *Les réactions positives sont notées par le signe* +, *les réactions négatives par le signe* 0. *Le nombre de* + *marque l'intensité de la réaction* (+ + +, *forte* ; + + *moyenne* ; + *légère*).

Les expériences en question mettent en jeu des facteurs très complexes, aussi convient-il, avant de les interpréter, de se rendre compte, si possible, de ce que représente, *in se*, le phénomène de floculation.

Jusqu'ici, la plupart des auteurs ont attribué la floculation qui se produit lorsqu'on met en présence des lipoïdes organiques et certains sérums, à la précipitation des globulines du sérum (1). Les observations faites au cours des recherches rapportées dans ce travail nous conduisent à penser qu'il s'agit, avant tout, d'une coagulation des micelles lipoïdiques de l'émulsion.

Il est tout d'abord à noter que la vitesse de réaction est beaucoup plus lente dans la sérofloculation que dans une séroprécipitation provoquée par un sel de métal lourd ou par un antisérum spécifique. On doit observer aussi que les réactions de floculation sont infiniment plus sensibles aux influences de température que ne le sont les réactions de séroprécipitation.

Le fait que la floculation amène, lorsque la réaction est totale, un éclaircissement parfait du milieu, tandis qu'il persiste une certaine opalescence quand la réaction est incomplète ; — le fait que les flocons restent indéfiniment en suspension dans le liquide, tant que le tube reste à l'étuve, s'il s'agit de sérofloculation, alors que les flocons se sédimentent assez rapidement, même à chaud, dans le cas de séroprécipitation, paraissent tous deux indiquer que les lipoïdes prennent part à la formation du floculat. Ces constatations n'éclairent cependant pas le point de savoir s'il y a coagulation autonome des micelles du lipoïde ou simple entraînement provoqué par la précipitation éventuelle des globulines du sérum. Les expériences suivantes apportent des arguments plus démonstratifs.

On prépare, dans les conditions habituelles, une émulsion d'un extrait alcoolique d'organe (foie de bœuf par exemple) ; on ajoute à 1 cent. cube de cette émulsion, 0 c. c. 25 de sérum de bœuf et on porte à l'étuve. Au bout de vingt-quatre heures, on constate qu'il s'est produit une floculation totale : nombreux et volumineux flocons flottant dans un liquide clair.

Remplaçons, dans cette expérience, l'émulsion d'extrait d'organe par une solution de So^4Cu (concentration 1 p. 2.500). Dès qu'on ajoute le sérum de

(1) Cf. E. Wollman, Les nouvelles méthodes de séro-diagnostic de la syphilis. *Bull. de l'Institut Pasteur*, **18**, 15 avril 1920.

TABLEAU II.

NATURE DES SÉRUMS			EXTRAITS D'ORGANES DE CHEVAL										
			Sang	Foie	Rate	Muscle	Cœur	Poumon	Rein	Cerveau	Testicule	Estomac	Intestin
Sérum normal de	Cheval . .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bœuf . . .		0	++	+++	0	0	+++	++	++ (1)	++	0	0
	Porc . . .		0	++ (1)	0	++	+ (1)	+ (1)	0	0	0	0	0
	Mouton. .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lapin. . .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antisérum obtenu avec du tissu de	Cheval .	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	+++	+	+	+++	++	0	0	+	+++
	Bœuf. .	Sang.	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Porc . .	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mouton.	Sang.	0	0	+++	+	+	+++	+	0	0	+++	+++
		Foie .	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	+++	+++	+++	+++	+	0	+	++	+++

(1) Les réactions ont été négatives avec certains sérums.

TABLEAU III.

NATURE DES SÉRUMS			EXTRAITS D'ORGANES DE BŒUF										
			Sang	Foie	Rate	Muscle	Cœur	Poumon	Rein	Cerveau	Testicule	Panse	Intestin
Sérum normal de	Cheval		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bœuf		+	+++	+++	+	0	+++	+ (1)	+ (1)	++	+	+++
	Porc		0	+ (1)	0	++ (1)	+	0	0	++ (1)	+	0	0
	Mouton		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lapin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antisérum obtenu avec du tissu de	Cheval	Sang	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bœuf	Sang	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Porc	Sang	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mouton	Sang	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0

(1) Les réactions ont été négatives avec certains sérums.

TABLEAU IV.

NATURE DES SÉRUMS			EXTRAITS D'ORGANES DE PORC										
			Sang	Foie	Rate	Muscle	Cœur	Poumon	Rein	Cerveau	Testicule	Estomac	Intestin
Sérum normal de	Cheval . .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bœuf . . .		0	++	+++	0	++	+++	++	+ (1)	+	0	+++
	Porc . . .		0	++ (1)	0	0	0	0	++ (1)	0	0	0	0
	Mouton . .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lapin . . .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antisérum obtenu avec du tissu de	Cheval .	Sang.	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bœuf . .	Sang.	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	+++	0	0	+	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Porc . .	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mouton.	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0

(1) Les réactions ont été négatives avec certains sérums.

TABLEAU V.

NATURE DES SÉRUMS			EXTRAITS D'ORGANES DE MOUTON										
			Sang	Foie	Rate	Muscle	Cœur	Poumon	Rein	Cerveau	Testicule	Panse	Intestin
Sérum normal de	Cheval . .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bœuf . . .		0	+++	+++	0	0	+++	++	++ (1)	++	0	+++
	Porc . . .		0	++ (1)	0	+ (1)	++ (1)	+	0	0	+	0	0
	Mouton. .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lapin. . .		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antisérum obtenu avec du tissu de	Cheval .	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bœuf. .	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Porc . .	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mouton.	Sang.	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	+	0	+	0	0	++	0	0	0	0	0

(1) Les réactions ont été négatives avec certains sérums.

bœuf, il se produit un trouble, puis des flocons apparaissent et se collectent en un seul bloc qui se tasse au fond du tube. C'est là une séroprécipitation typique.

Reprenons maintenant l'émulsion d'extrait d'organe et remplaçons, cette fois, le sérum de bœuf par un égal volume, soit 0 c. c. 25, d'une dilution de HCl $\left(\text{concentration } \frac{N}{30}\right)$. Si on porte à l'étuve, on peut observer, au bout de vingt-quatre heures, qu'il s'est formé une floculation caractéristique : gros flocons isolés en suspension dans un liquide clair. Les apparences sont ici de tous points identiques à celles notées dans l'expérience où se trouvaient mélangés l'émulsion et le sérum de bœuf. Il y a tout lieu de penser que, dans un cas comme dans l'autre, ce sont les lipoïdes qui ont surtout formé la substance du floculat.

On peut d'ailleurs se rendre compte que, dans les floculations obtenues avec des sérums normaux ou des antisérums, le floculat se dissout presque entièrement par addition d'éther, ce qui établit la part prépondérante que les lipoïdes prennent dans sa formation.

Si après élimination du floculat on précipite les albumines restant dans le liquide clair, on voit que le précipité formé est un peu moins abondant que celui obtenu, dans les mêmes conditions, avec une dilution de sérum à la concentration du mélange avant floculation. On doit en conclure qu'une faible partie des albumines du sérum a participé à la constitution du floculat.

La réaction de floculation nous apparaît donc comme une réaction de nature colloïdale. Une fraction du sérum se fixe sur les grains du lipoïde pour former un complexe lipoïdo-albumineux, instable en présence de l'électrolyte NaCl. C'est une coagulation de colloïde par un autre colloïde (1).

Cherchons maintenant à démêler la signification de nos expériences de floculation. La première question à élucider est celle de savoir s'il s'agit de réactions dépendant de l'union d'un antigène et de son anticorps, ou de réactions d'ordre banal.

Considérons, en premier lieu, le cas des sérums normaux.

Les tableaux précédents montrent que, dans les conditions de nos expériences, le sérum de bœuf flocule la plupart des extraits d'organes des différentes espèces, le sérum de porc en flocule seulement quelques-uns, les sérums de cheval, de mouton, de lapin, au contraire, n'en floculent aucun.

(1) Cette interprétation contient une explication des particularités de la réaction : influence de la température — importance des concentrations des réactifs — mode de préparation de l'émulsion de lipoïdes (selon que l'on précipite les lipoïdes de l'extrait en bloc ou par fraction, on obtient une suspension formée de micelles plus ou moins grosses).

Voir J. Duclaux, *Les Colloïdes*. Gauthier-Villars et Cie, éditeur, Paris, 192 .

Le fait que le sérum de bœuf floculе indifféremment les extraits de foie, de rate, de poumon, de rein, de cerveau, de testicule, que ceux-ci proviennent du cheval, du porc, du mouton et même du bœuf, se concilie mal avec l'idée d'une réaction spécifique.

Quelle que soit leur provenance, tous les lipoïdes floculables par le sérum de bœuf fixent le principe floculant de ce sérum. Si on laisse, en effet, du sérum de bœuf en contact prolongé avec l'un quelconque de ces lipoïdes, le sérum se trouve dépouillé de son aptitude à provoquer la floculation de ce lipoïde et, du même coup, celle de tous les autres. C'est ce que va nous montrer l'expérience suivante.

On fait macérer, pendant vingt-quatre heures, 2 grammes de poudre d'organe, épuisée par l'acétone, dans 10 cent. cubes d'alcool à 96°-100°. La liqueur alcoolique, filtrée puis concentrée sous le vide, fournit un résidu pâteux (ayant l'aspect et l'odeur des lécithines). Des résidus lipoïdiques de rate de cheval, de rate de bœuf, de cerveau de cheval, de rein de porc, de muscle de mouton, ainsi préparés, sont laissés en contact pendant vingt-quatre heures, à la température du laboratoire, avec 4 cent. cubes de sérum de bœuf chauffé. Les sérums traités, recueillis par filtration sur papier mouillé, sont éprouvés, comparativement avec le sérum originel, sur divers extraits d'organes. Les résultats de ces essais sont inscrits dans le tableau ci-contre (1).

Il découle, de cette expérience, la conclusion que le sérum de bœuf, à l'état normal, possède certains éléments susceptibles de s'unir aux lipoïdes de la plupart des tissus. Ce sont ces éléments qui, se fixant sur les lipoïdes à l'état de suspension colloïdale dans l'eau salée, en provoquent la floculation.

L'aptitude des lipoïdes à fixer cette fraction active du sérum de bœuf paraît être beaucoup plus en rapport avec la nature anatomique des organes dont ils proviennent qu'avec l'espèce zoologique à laquelle appartiennent ces organes.

Avec le sérum de porc, les conditions qui régissent la floculation sont très capricieuses. On ne relève, d'ailleurs, aucun parallélisme entre l'activité de ce sérum et celle du sérum de bœuf vis-à-vis des divers extraits.

Au regard des lipoïdes du foie, le sérum de porc se comporte, à peu de chose près, comme le sérum de bœuf, mais à l'inverse

(1) Les mêmes résultats sont obtenus lorsqu'on traite directement le sérum de bœuf par la poudre d'organe.

NATURE DU SÉRUM		EXTRAIT ALCOOLIQUE DE								
		Rate de cheval	Rate de bœuf	Cerveau de cheval	Rein de porc	Muscle de mouton	Foie de porc	Poumon de cheval	Poumon de mouton	Rate de mouton
Sérum de bœuf originel	0 c. c. 25	+++	+++	++	++	0	+++	+++	+++	+++
	0 c. c. 15	+++	+++	0	+	0	+++	+++	+++	+++
Sérum de bœuf traité par des lipoïdes de rate de cheval.	0 c. c. 25	+	0	0	0	0	0	0	+	0
	0 c. c. 15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum de bœuf traité par des lipoïdes de rate de bœuf.	0 c. c. 25	0	0	0	0	0	0	0	0	+
	0 c. c. 15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum de bœuf traité par des lipoïdes de cerveau de cheval.	0 c. c. 25	+	+	0	0	0	+	0	0	+
	0 c. c. 15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum de bœuf traité par des lipoïdes de rein de porc.	0 c. c. 25	+	+	0	0	0	+	0	0	+
	0 c. c. 15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum de bœuf traité par des lipoïdes de muscles de mouton.	0 c. c. 25	+++	+++	++	++	0	+++	+++	+++	+++
	0 c. c. 15	++	++	0	+	0	+++	+++	++	++

de ce dernier, il se montre souvent actif envers les lipoïdes du muscle tandis qu'il est inactif, ou presque, à l'égard des lipoïdes de la rate, du poumon et de l'intestin. On a cependant l'impression que, pour le sérum de porc également, les différences d'activité par rapport aux diverses sortes de lipoïdes paraissent d'ordre qualitatif plutôt que quantitatif pour ce qui concerne la nature de l'organe, d'ordre quantitatif plutôt que qualitatif en ce qui touche l'espèce animale.

Quant aux sérums de cheval, de mouton et de lapin, ils ne possèdent point, à l'état normal, d'éléments susceptibles de s'allier aux lipoïdes des tissus (Au moins peut-on dire que si une union de cette sorte a lieu, elle ne donne pas naissance à un complexe instable, dans les conditions de nos expériences).

Il n'est pas sans intérêt de remarquer, en passant, que le sérum humain normal se comporte à l'égard des extraits d'organes, comme un sérum de cheval, de mouton ou de lapin. Par contre, le sérum provenant de certains sujets syphilitiques agit, vis-à-vis des extraits de foie, comme les sérums de bœuf et de porc, et vis-à-vis des extraits de cœur, comme le sérum de bœuf (1). Ici encore, l'affinité que ces sérums ont acquise, du fait de la maladie, pour les lipoïdes, se manifeste à l'égard des organes dont ces lipoïdes tirent leur origine, sans distinction de l'espèce animale dont proviennent ces organes.

Il y aurait peut-être lieu d'établir un rapprochement entre l'activité des divers sérums, au point de vue de leur aptitude à floculer les lipoïdes, et le degré d'instabilité de leurs albumines. Il est aisé de montrer, en effet, que les globulines du sérum de bœuf sont plus facilement précipitables que celles du sérum de porc, et ces dernières plus que celles des sérums de cheval, de lapin et de mouton.

A 1 cent. cube d'une solution de So^4Cu de concentration 1 p. 2.500, on ajoute 0 c. c. 25 des différents sérums. On constate que le précipité obtenu est abondant avec le sérum de bœuf, léger avec le sérum de porc, nul avec les sérums de cheval, de lapin et de mouton.

[Des expériences très probantes nous permettent cependant d'affirmer que, pour ce qui concerne les sérums des sujets

(1) E. Césari et M. Lévy-Bruhl, Sur l'activité de divers extraits alcooliques d'organes pouvant être utilisés, en guise d'antigène, dans le séro-diagnostic de la syphilis. *C. R. de la Soc. de Biol.* Séance du 14 janvier 1922.

syphilitiques, il n'y a aucune relation entre le pouvoir floculant à l'égard des lipoïdes du cœur et du foie et le degré de précipitabilité de leurs globulines.]

Doit-on assimiler la fraction d'un sérum normal qui joue un rôle actif dans la floculation à un anticorps naturel dont le lipoïde (ou un constituant du lipoïde) représenterait l'antigène?

Il faudrait alors admettre que tous les lipoïdes floculables par le sérum de bœuf possèdent un élément antigène commun, que tous les lipoïdes floculables par le sérum de porc possèdent de leur côté un autre élément antigène commun. Pareille proposition est donc, pour ainsi dire, dépourvue de sens puisqu'elle implique la banalité des antigènes.

Passons au cas des antisérums.

Nous savons que le sérum normal de lapin ne flocule aucun extrait d'organe. Or l'examen des tableaux II et V révèle que les sérums des lapins traités par la rate de cheval, le sang de mouton ou la rate de mouton, possèdent la commune propriété de floculer les extraits de ces mêmes tissus et, par surcroît, les extraits de la plupart des organes de cheval.

Il ne s'agit plus ici de réactions s'effectuant indifféremment avec des extraits de toutes sortes d'organes, mais bien de réactions électives se produisant seulement pour quelques antisérums et vis-à-vis seulement de quelques extraits.

Etudions particulièrement le sérum antirate de cheval.

Si on laisse en contact du sérum antirate de cheval et des lipoïdes isolés de la rate de cheval, l'antisérum est rendu inapte à floculer non seulement les extraits de rate de cheval, de rate de mouton et de sang de mouton, mais aussi les extraits d'organes de cheval qu'il floculait auparavant. Si on traite, au contraire, le sérum antirate de cheval par des lipoïdes isolés de la rate de bœuf, l'antisérum conserve ses propriétés. Voici l'expérience qui établit ces deux points.

On prépare, comme il a été dit ci-dessus, des lipoïdes de rate de cheval et de rate de bœuf. On met en contact, pendant vingt-quatre heures, chaque sorte de lipoïde avec 4 cent. cubes de sérum antirate de cheval. Les antisérums ainsi traités, recueillis par filtration sur papier mouillé, sont éprouvés comparativement avec le sérum originel, au point de vue de la floculation des extraits de rate de cheval, de sang et de rate de mouton et de divers

extraits d'organes de cheval. Les résultats de ces épreuves sont donnés dans le tableau suivant.

NATURE DU SÉRUM		EXTRAIT ALCOOLIQUE DE						
		rate de cheval	sang de mouton	rate de mouton	poumon de cheval	rein de cheval	intestin de cheval	rate de bœuf
	c. c.							
Sérum de lapin, antirate de cheval.	0,25	+++	++	+	+++	++	+++	0
	0,15	++	+	0	++	++	++	0
Même sérum traité par les lipoïdes de rate de cheval.	0,25	0	0	0	0	0	0	0
	0,15	0	0	0	0	0	0	0
Même sérum traité par les lipoïdes de rate de bœuf.	0,25	+++	+	0	+++	++	+++	0
	0,15	++	0	0	++	+	++	0

Il est donc apparu, dans le sérum du lapin inoculé avec du tissu de rate de cheval, des éléments susceptibles de s'unir soit aux lipoïdes de la rate de cheval, du sang et de la rate de mouton, soit aux lipoïdes du poumon, du rein, de l'intestin du cheval, en constituant avec eux un complexe colloïdal instable. Les sérums antisang et antirate de mouton doivent contenir des éléments identiques, puisque ces antisérums se comportent de tous points comme le sérum antirate de cheval.

Nous avons également obtenu des antisérums jouissant du même pouvoir floculant que le sérum antirate de cheval en injectant, au lapin, des émulsions d'organes de cheval (poumon, rein) dont les extraits sont floculés par cet antisérum. Nous nous sommes assuré, d'autre part, que les lipoïdes isolés de ces organes de cheval fixent la fraction active des antisérums au même titre que les lipoïdes de la rate de cheval.

Il nous paraît inutile de rapporter ici toutes les expériences réalisées, calquées sur les précédentes au point de vue de la technique, et dont les résultats sont exactement superposables, *mutatis mutandis*, à ceux qui sont exposés plus haut.

Pour les exemples choisis, on voit que les tissus susceptibles d'engendrer des antisérums floculants fournissent également des extraits alcooliques floculables. Il existe ici une relation

évidente, directe et croisée, entre la propriété que possèdent ces tissus de provoquer l'apparition, dans le sérum des lapins traités, d'éléments capables de s'unir aux lipoïdes et la faculté que détiennent, et que détiennent seuls, les lipoïdes de ces mêmes tissus de fixer ces éléments. Il semble bien, à première vue, qu'il doit s'agir là d'une production d'anticorps déterminée par l'injection d'un antigène. Tout paraît se passer comme si les tissus dont il est question renfermaient un élément antigène commun, lequel serait représenté par leurs lipoïdes (ou une fraction de ces lipoïdes), et comme si les divers antisérums, préparés à l'aide de ces tissus, contenaient tous un anticorps identique, représenté par les éléments de l'antisérum fixé par ces lipoïdes. Dans ce cas, la floculation, qui est réellement ici une réaction à caractère spécifique, pourrait être considérée comme une conséquence de la fixation de l'anticorps sur l'antigène, et se rapprocherait, par son mécanisme, des réactions de précipitation et d'agglutination.

Nous retrouvons donc, à ce propos, la question depuis longtemps — et toujours vainement — discutée, du rôle antigène des lipoïdes. Examinons de près cette éventualité.

Nous savons que nos antisérums ont été préparés avec des émulsions d'organes frais, renfermant à coup sûr de multiples éléments antigènes. Ces antisérums doivent donc contenir toute une série d'anticorps, dont quelques-uns nous ont été révélés précédemment par leurs effets hémolysants ou précipitants (Tableau I).

Par contre, les extraits devant lesquels ces antisérums étaient appelés à réagir *in vitro* ayant été obtenus en partant de tissus chauffés, épuisés par l'eau et l'acétone, puis repris par l'alcool, ne pouvaient recéler tous les éléments antigènes des organes dont ils provenaient. De fait, en raison du traitement mis en œuvre, les extraits alcooliques utilisés ne renferment que les lécithines des tissus, les traces de lipoïdes et de cholestérine retenues en solution par ces lécithines et aussi, très probablement, des traces de matières protéiques formant avec elles des complexes lipoïdo-albumineux (1), ensemble assez mal défini

(1) G. Linossier, *Les lipoïdes dans l'infection et dans l'immunité*. J.-B. Baillière et fils, Paris, 1920.

au point de vue chimique, que nous avons désigné et que nous continuerons à désigner sous le nom de lipoïdes. Les extraits alcooliques, qui, dans les réactions envisagées ici, font virtuellement office d'antigène, ne pouvant contenir que des éléments antigènes liés à ces lipoïdes, l'anticorps éventuel qui intervient dans la réaction ne peut être que celui qui correspond à ces mêmes lipoïdes. Or les lipoïdes isolés d'un organe donnant des extraits alcooliques floculables paraissent incapables d'engendrer, chez le lapin, un sérum se comportant au point de vue de la floculation, comme l'antisérum obtenu en utilisant l'organe total. C'est ce que montre l'expérience suivante, choisie parmi plusieurs autres.

Un lapin reçoit, trois jours de suite, en injection intrapéritonéale, une émulsion en eau physiologique de lipoïdes isolés de la rate de cheval par la méthode précédemment décrite. La quantité totale administrée correspond aux lipoïdes extractibles contenus dans 70 grammes de rate de cheval à l'état frais. On saigne l'animal six jours après la dernière injection. Son sérum ne flocule ni l'extrait de rate de cheval, ni aucun autre extrait d'organe. (Le pouvoir hémolytique de ce sérum à l'égard des globules rouges de mouton est pour ainsi dire nul.)

La poudre d'organe, privée de ses lipoïdes par extraction alcoolique, administrée au lapin, en injection intrapéritonéale, dans les mêmes conditions que ci-dessus (la quantité inoculée correspondait à 15 grammes environ de tissu frais), engendre également un antisérum qui ne flocule aucun extrait d'organe et qui est dépourvu, ou presque, d'action hémolytique sur les globules de mouton.

Rappelons que le sérum antirate de cheval qui s'est montré actif dans les expériences de floculation avait été obtenu avec 5 grammes seulement de tissu frais.

Cette expérience établit indiscutablement que les lipoïdes ne constituent pas toute la substance antigène de la rate de cheval. Prouve-t-elle que les lipoïdes ne contiennent aucune trace d'antigène ? Nous ne le pensons pas.

Il est connu qu'une quantité infinitésimale d'antigène peut suffire pour déclancher *in vitro* une réaction spécifique en présence d'un excès d'anticorps. C'est ainsi, par exemple, qu'en faisant agir un cent millième de centimètre cube de sérum de cheval sur 1 centimètre cube de sérum de lapin antisérum de cheval, on obtient une précipitation très nette. Mais pour obtenir cet antisérum, il a fallu injecter à l'animal producteur 9 centimètres cubes au moins de sérum de cheval, c'est-à-dire une quantité près d'un million de fois supérieure à celle qui se

montre suffisante, *in vitro*, pour déterminer la réaction spécifique. Il n'est guère besoin de souligner que, dans l'expérience précédente, l'écart était loin d'atteindre cet ordre de grandeur.

Si donc il paraît bien démontré que les lipoïdes à eux seuls ne constituent pas tout l'antigène, rien n'empêche de supposer, tout au moins, qu'ils en renferment des traces. Dans tous les cas, c'est là une hypothèse nécessaire, si on veut raccorder les phénomènes de floculation par les antisérums aux réactions d'anticorps et d'antigènes qui nous sont familières.

Cette conception ne pourra d'ailleurs s'adapter à l'explication des faits observés, ainsi qu'on va s'en rendre compte, que si elle est complétée par une série d'hypothèses moins solidement étayées encore que la première.

Nous savons que la fonction antigène est presque exclusivement attachée à des substances protéiques. Nous venons de voir que, contrairement aux tissus frais, les tissus chauffés ne possèdent plus de pouvoir antipoïétique. Comme la chaleur n'a pu altérer que les matériaux albuminoïdes, il est tout naturel de rattacher la faculté antigène des tissus à des constituants de cette nature. Puisqu'il est reconnu, d'autre part, que les lipoïdes des tissus contractent avec les albuminoïdes qui les accompagnent des alliages insécables, il paraît logique d'attribuer aux matières protéiques des tissus incorporées aux lipoïdes le rôle antigène que, par convention, nous voulons assigner à ces derniers. Mais pour arriver à concilier l'abolition de la faculté antipoïétique des tissus par l'effet du chauffage et la présence d'antigène dans les extraits alcooliques provenant de tissus chauffés, on est obligé de supposer que la fonction antigène des albuminoïdes doit se trouver protégée contre l'action destructrice de la coagulation lorsque ces substances sont alliées aux lipoïdes (1).

Si on pousse plus loin l'analyse des faits, la théorie va

(1) En ajoutant de l'albumine *acidifiée* à une émulsion de lécithine, A. Mayer et F. Terroine obtiennent un précipité formé par un complexe lécithine-albumine. Ce complexe est soluble dans l'alcool éthylique et insoluble dans l'acétone. Tandis que la lécithine, dans l'émulsion, se comporte comme un colloïde *négatif*, le complexe lécithine-albumine se comporte comme un colloïde *positif*. (André Mayer et E. F. Terroine, Recherches sur les complexes colloïdaux d'albuminoïdes et de lipoïdes. *C. R. de la Soc. de Biol.* séance du 9 mars 1907, **62**, p. 398.)

s'enrichir d'une nouvelle hypothèse. On constate, en effet, que des tissus capables d'engendrer, chez le lapin, des antisérums très puissants (c'est le cas pour la rate de mouton) fournissent des extraits alcooliques relativement peu floculables par ces derniers. Et ceci conduit à supposer que l'antigène, selon la nature des organes qui le renferment, se trouve réparti en proportions variables entre les albuminoïdes libres et les albuminoïdes qui font corps avec les lipoïdes.

Encore n'a-t-il été tenu compte, jusqu'ici, que des faits les plus favorables à l'hypothèse en discussion, ceux où l'on pouvait soupçonner, à la rigueur, l'intervention de l'antigène F. Si on cherche à étendre cette interprétation des phénomènes à l'ensemble des réactions positives et négatives notées dans les expériences, on se heurte à des objections presque insurmontables. La théorie devrait, en effet, pouvoir justifier l'absence de réaction, si fréquemment observée, entre un antisérum et l'extrait alcoolique de l'organe qui a servi à obtenir cet antisérum. On pourrait, sans doute, expliquer le fait par l'existence possible, dans l'organisme du lapin, de l'antigène en cause. Dans cette occurence, l'antisérum serait inactif parce que le lapin peut se montrer incapable de produire un anticorps dirigé contre un de ses propres antigènes. Mais cette raison ne peut être valablement retenue que si l'antisérum ne flocule aucun extrait d'organe et si l'extrait d'organe correspondant n'est floculé par aucun autre antisérum, car, dans un cas comme dans l'autre, toute réaction positive présuppose, dans notre hypothèse, l'existence d'un antigène lipoïdique.

Comment expliquer, par exemple, que l'extrait alcoolique de rate de bœuf, floculé par le sérum antisang de cheval et le sérum antirate de mouton, ne soit pas floculé par le sérum antirate de bœuf? Comment expliquer que l'extrait de rate de porc, floculé par le sérum antirate de mouton et le sérum antifoie de bœuf, ne le soit point par le sérum antirate de porc? Admettons, pour un instant, que ces deux séries d'organes contiennent chacune des éléments antigènes communs. Dira-t-on que les uns ne contiennent cet antigène qu'à l'état libre et donnent par conséquent des antisérums actifs et des extraits alcooliques inactifs? Dira-t-on que les autres ne contiennent que l'antigène à l'état de combinaison lipoïdique et donnent

par conséquent des antisérums inactifs et des extraits alcooliques actifs? C'est peu vraisemblable.

Sans insister davantage, on voit que, malgré l'appui des nombreuses conditions hypothétiques invoquées, il n'est pas permis d'attribuer légitimement aux réactions de floculation par les antisérums la signification d'une réaction d'anticorps et d'antigène. C'est un point qui, en raison de son importance théorique, méritait d'être mis en relief.

Abandonnant donc l'explication commode qui consiste à mettre sur le compte d'un antigène éventuel n'importe quelle manifestation objective des propriétés d'un antisérum, nous ne retiendrons que les faits positifs qui ressortent de nos expériences. En dehors de toute interprétation théorique, on peut dire que les réactions de floculation obtenues avec les antisérums d'organes révèlent certaines relations entre les lipoïdes de divers tissus.

L'action similaire exercée par les sérums antirate de cheval, antisang et antirate de mouton sur les extraits alcooliques de rate, de poumon, de rein, de cœur, de muscle, d'estomac et d'intestin de cheval, de sang et de rate de mouton, établit qu'il existe une parenté entre les lipoïdes de tous ces tissus.

De même, les réactions positives obtenues avec les sérums antisang de cheval, antifoie et antisang de bœuf, agissant sur les extraits alcooliques de rate de bœuf et de rate de porc, dénoncent une certaine parenté entre les lipoïdes de ces deux organes.

Ce que nous avons dit sur le mécanisme du phénomène de la floculation permet d'entrevoir qu'il peut s'agir tout simplement de propriétés physico-chimiques communes aux suspensions colloïdales des lipoïdes auxquels nous venons de reconnaître des liens de parenté.

En résumé, la floculation peut être considérée comme un test — fort délicat à manier d'ailleurs — qui révèle une affinité entre certains éléments des sérums et certains groupes de lipoïdes organiques.

Du côté des sérums, cette affinité est *naturelle* (sérums normaux de bœuf et de porc), *acquise* (sérums des individus atteints de syphilis) ou *provoquée* (sérums de lapins traités à l'aide de certains organes) et, dans ce dernier cas, elle peut

être provoquée électivement, à l'égard des lipoïdes de quelques tissus, au moyen des tissus mêmes auxquels appartiennent ces lipoïdes.

On ne pourra connaître, semble-t-il, le déterminisme de ces affinités que par des recherches d'ordre physico-chimique portant à la fois sur les sérums et les émulsions colloïdales des lipoïdes organiques.

ADDENDUM

Application à la révélation des fraudes sur les viandes et les produits de charcuterie.

En raison de l'anéantissement des propriétés antigènes des substances protéiques par la chaleur, ni la séro-précipitation, ni la déviation du complément, pratiquées au moyen des sérums antisérums, ne peuvent servir à la diagnose zoologique des viandes cuites. Aussi, dans la pratique, les applications des procédés d'Uhlenhuth et de Fally sont-elles restreintes à la détermination de la nature des viandes crues (salaisons, saucissons secs). Jusqu'en ces derniers temps, les services de la répression des fraudes ne disposaient d'aucun moyen expérimental pour reconnaître la nature des viandes entrant dans la composition des mets cuisinés ou la confection des produits de charcuterie qui subissent l'action de la chaleur au cours de leur préparation (conserves de viandes, pâtés de viande, rillettes, saucissons cuits, saucisses fumées, andouilles, andouillettes). Or, ce sont justement ceux-là qui se prêtent le mieux aux tromperies et aux falsifications.

La fraude à laquelle donne le plus souvent lieu le commerce de ces denrées consiste à vendre, comme produits confectionnés avec de la viande ou des organes de bœuf et de porc, des produits composés totalement ou en partie de viande ou d'organes de cheval, dont la qualité est inférieure et le prix moins élevé.

Les données établies par les recherches qui précèdent montrent la possibilité de révéler la présence de la viande et des organes de cheval (à l'exception du foie et du cerveau) dans des mets préparés ou des produits de charcuterie soumis à la

cuisson. Théoriquement, il devrait, semble-t-il, suffire de récupérer les lipoïdes de ces produits par extraction alcoolique et de rechercher la manifestation de leur affinité spécifique, au moyen de la méthode de la floculation, en présence d'un sérum de lapin antirate de cheval, antisang ou antirate de mouton. Pratiquement, le problème est un peu plus compliqué.

Déjà Sachs et Georgi (1) ont fait connaître une méthode d'identification de la viande de cheval cuite, basée sur les propriétés de l'antigène F. Leur procédé consiste à fixer l'anticorps hémolytique d'un sérum de lapin, ayant reçu des injections répétées de globules rouges de mouton, sur la viande à expertiser. Après un contact suffisant, on titre le pouvoir hémolytique de l'antisérum. Ce pouvoir est annihilé ou notablement affaibli s'il s'agissait de viande de cheval ; il n'est pas diminué s'il s'agissait de viande de bœuf, de porc ou de mouton.

Guth (2) a cherché à mettre à profit, dans le même but, la méthode de floculation. Toutefois, dans l'impossibilité où s'est trouvé cet auteur d'obtenir régulièrement, avec la viande de cheval cuite, des extraits alcooliques floculables, il a eu recours à un procédé indirect. La technique conseillée par Guth comporte la fixation de l'anticorps d'un sérum de lapin antirein de cobaye ou antihématies de mouton sur le résidu sec d'un extrait alcoolique de la viande dont il s'agit de déterminer la nature. L'antisérum est ensuite éprouvé, au point de vue de la floculation, en présence d'un extrait alcoolique de rein de cobaye. La floculation doit avoir lieu si la viande expertisée est de la viande de bœuf, de porc ou de mouton ; elle ne doit pas se produire si c'est de la viande de cheval.

Personnellement, de nombreux essais, effectués avec toutes sortes de produits, nous ont montré qu'il était plus ou moins facile de dépister les lipoïdes des organes de cheval suivant la nature des tissus entrant dans la composition de la denrée examinée. On peut obtenir, directement, des floculations extrêmement nettes lorsqu'on opère sur les extraits alcooliques de produits contenant des intestins de cheval (andouilles fumées, andouillettes) alors même que ceux-ci n'entrent que pour un tiers dans leur composition. Les résultats sont moins

(1) Sachs et Georgi, *Zeitschrift f. Immunitätsf.*, 1914, **21**, p. 342.
(2) Guth, *Zeitschrift f. Immunitätsf.*, 1920, **30**, p. 517.

significatifs, et peuvent prêter à équivoque, lorsqu'on expérimente avec les extraits alcooliques de produits uniquement composés de viande (saucissons cuits, saucisses fumées). Dans ce cas, il convient de contrôler l'épreuve par l'emploi d'une méthode indirecte.

Nous ferons connaître ultérieurement, avec les détails qui ne pouvaient trouver place ici, les recherches poursuivies en vue des applications pratiques de la méthode de floculation à la répression des fraudes et les techniques un peu spéciales que nous avons adoptées dans ce but.

(Travail du laboratoire de M. Nicolle. Institut Pasteur.)

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

36e ANNÉE MAI 1922 N° 5

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

LES MYCÉTOMES A GRAINS NOIRS DU SÉNÉGAL

par les Drs F. NOC et JOUENNE.

(Travail de l'Institut de Biologie et de l'Ecole de Médecine de l'Afrique occidentale française.)

Les mycétomes à grains noirs africains ont été étudiés, pour la première fois, en 1894, par Le Dantec (1), sur un pied de Madura, provenant d'un Toucouleur amputé par Durand, à Saint-Louis du Sénégal. Le Dantec attribua l'origine de l'affection à des amas de petits bacilles accolés aux grains noirs. C'était la période de la médecine tropicale, où les bactéries étaient encore considérées comme la cause probable de toutes les maladies. De plus, les recherches avaient porté sur des grains altérés par la dessiccation, ce qui rendait difficile l'observation du mycélium.

En 1901, Chabaneix, Bouffard et Brumpt (2) ont observé, à Djibouti, sur un pied de Madura à grains noirs, un mycélium cloisonné de 2 μ et de 2 μ 5 de largeur qu'ils n'ont pu cultiver. Poursuivant ses recherches, Brumpt (3), au cours de la même année, a découvert au pays Djeberti (Ogaden) dans un mycétome à grains noirs, des filaments mycéliens noirs, enchevêtrés,

(1) Le Dantec. *Arch. de Méd. Navale et Coloniale*, **62**, 1894, p. 447.
(2) Chabaneix, Bouffard et Brumpt. *Ann. Hyg. et Méd. Coloniales*, juillet-août-septembre 1901, n° 3, p. 452.
(3) Brumpt. *Arch. de parasitologie*, **5**, 1902, p. 149 à 159.

des œufs, des conidies de diverses sortes, appartenant à un parasite qui se reproduit et végète comme une Mucorinée.

Après avoir décrit, en 1902 (1), le mycélium de grains noirs qu'il avait rapportés de Djibouti, Bouffard (2) a étudié, en 1905, à l'Institut Pasteur dans le laboratoire de Binot, des grains desséchés provenant d'un pied de Madura sénégalais; il a trouvé un mycélium cloisonné et ramifié, aux extrémités arrondies, aux articles moniliformes, mesurant de 5 à 6 μ de largeur, sur 8 à 15 μ de longueur; la substance interstitielle est considérable, en grande partie dissoute par la potasse. C'est la première observation d'un champignon de mycétome mélanique sénégalais. Toutefois, en l'absence de culture, on ne saurait conclure à une assimilation avec le champignon rapporté de la Côte des Somalis, que Brumpt a, d'ailleurs, en 1905, reconnu comme *Aspergillus* (*Aspergillus Bouffardi* Brumpt) (3) et dont les grains sont constitués par un cordon enroulé sur lui-même, sans substance interstitielle.

Plus récemment, Puyhaubert et Jolly (4) ont isolé, à l'armée d'Orient, d'un cas de mycétome des régions périnéale et fessière observé chez un indigène de la Côte d'Ivoire, un champignon qu'ils rattachent à l'espèce *Madurella mycetomi* Laveran, 1902 (grains formés de filaments et de chlamydospores à parois épaisses, culture à 37°, noircissement du milieu, formation de grains noirs (Sclérotes) sur carotte; inoculation au pigeon négative, amélioration des lésions par le novarsénobenzol).

J. Guiart (5) a signalé à propos d'une tumeur extraite à Lyon, le 8 juillet 1918, par le Dr Rafin, du pied d'un Soudanais, l'existence d'un mycélium aspergillaire à grains pâles qu'il n'a pu cultiver. Il a constaté, toutefois, sur les coupes :

1° L'existence d'une mince couche pigmentée, légèrement brunâtre et d'une épaisseur d'environ 15 μ;

2° L'existence d'un hile non pigmenté décrit par Brumpt dans le grain noir de Bouffard à *Aspergillus*. Il y a donc sécrétion de pigment. De plus, Guiart a vu la fragmentation des

(1) *Ann. Hyg. et Méd. Coloniales*, octobre 1902.
(2) Bouffard. *Ann. Hyg. et Méd. Coloniales*, 1905.
(3) Brumpt. *Arch. de Parasitologie*, **10**, 1906.
(4) Puyhaubert et Jolly. *Arch. de Méd. expérim*, **28**, 5, p. 441-445 et *Bull. Soc. Path. exot.*, **12**, 1919.
(5) J. Guiart. *C. R. Soc. Biol.* Lyon, Séance du 23 février 1920, n° 3, p. 277.

articles et la « formation d'oidies » comme dans le genre *Madurella* Brumpt. Guiart pense que le mycétome à grains blancs d'origine aspergillaire peut se transformer en mycétome à grains noirs et son observation montrerait une des étapes de la transformation. D'après lui également, *Indiella* et *Madurella* ne seraient que deux stades d'un même parasite qui serait rattaché soit à *Aspergillus*, soit à *Sterigmatocystis*.

Ici encore, l'absence de cultures du champignon observé dans la tumeur ne permet pas de souscrire sans réserves aux conclusions hypothétiques de Guiart. On ne peut d'ailleurs homologuer les grains blancs d'*Indiella* non cultivés avec les champignons isolés et bien définis des tumeurs à *Aspergillus*, avec lesquels on a obtenu expérimentalement des mycétomes tantôt blancs, tantôt noirs (Pinoy) (1).

De plus, les observations faites à Khartoum et à Tunis doivent rendre très prudent avant de permettre l'assimilation à une *Madurella* ou un *Aspergillus* d'un champignon de mycétome à grains noirs : Chalmers et Archibald (2) ont nommé *Glenospora Khartoumensis* le champignon cultivé en 1916 à Khartoum d'un cas de mycétome à grains noirs. Ch. Nicolle et G. Blanc (3), comparant à leur tour les *Madurella* cultivées à Tunis (*M. Tabarka* et *M. Tozeuri*) avec les cultures de Chalmers et d'Archibald, tendent à les rapprocher de ce genre « *Glenospora* », caractérisé par la présence d'aleuries sur les filaments. Toutefois ils réservent la question au point de vue botanique, les aleuries étant d'observation difficile et rare dans les cultures.

Nous considérons, par suite, le genre *Madurella* comme un genre encore provisoire dans lequel rentrent des champignons pathogènes, produisant des sclérotes, et qui sont soit des Aspergilloïdes, soit des Stérigmatocystoïdes, mais auquel on rattache peut-être des champignons parasites nettement différenciés des deux groupes précédents et qu'on ne peut déterminer qu'après une étude attentive des cultures à diverses températures.

(1) Pinoy. *Bull. Inst. Pasteur*, **11**, 15 et 30 novembre 1913.

(2) Chalmers et Archibald, cité par Ch. Nicolle et G. Blanc. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, décembre 1920.

(3) Ch. Nicolle et G. Blanc. *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, fasc. IV, décembre 1920.

Les mycétomes à grains noirs sont relativement fréquents au Sénégal. Nous avons pu en observer récemment trois cas, et la culture en a été obtenue au laboratoire de Dakar pour deux d'entre eux à 35° sur gélose glucosée de Sabouraud. L'échec de la culture dans le troisième cas nous paraît dû à l'abondance du pus dans lequel baignaient les grains noirs.

Trois autres cas ont été observés à Dakar à la même époque, soit à l'hôpital colonial, soit à l'hôpital indigène par nos collègues Bonrepaux (1), Lhuerre (2), Hudellet (inédit).

Les mycétomes à grains noirs sénégalais se présentent sous des aspects cliniques variables. Ce sont tantôt des pieds de Madura véritables, avec hypertrophie de la masse du pied simulant une tumeur maligne ulcérée, tantôt des œdèmes localisés ou diffus du membre inférieur ou supérieur, simple tuméfaction de la grosseur d'une noisette ou œdème éléphantiasique de la jambe, tantôt des plaques infiltrées plus ou moins étendues, sillonnées par des conduits à parois fibreuses et percées d'orifices par où s'échappent des grains noirs. Ces lésions se différencient assez bien à première vue de celles du mycétome à grains rouges, dont les grains plus petits, enchâssés dans les tissus, tout en donnant lieu à des réactions du même ordre, produisent des infiltrations plus denses, plus dures, offrant davantage l'aspect d'une tumeur fibreuse. L'issue de grains noirs, de la grosseur d'un grain de poudre de chasse à celle d'un petit pois, donne lieu d'autre part à la formation de pertuis assez larges sur lesquels s'ouvrent des fistules qui s'infectent secondairement. Les canaux et les poches ainsi formés s'agrandissent sous l'influence des bactéries et de la suppuration et présentent à la coupe des parois fibreuses épaisses. Nous n'avons pas rencontré jusqu'ici de cas semblables au mycétome non suppuré décrit par Bouffard et caractérisé par l'absence de cratères et de fistules.

Le terrain sur lequel évoluent ces mycétomes est le plus souvent, au Sénégal, un terrain syphilitique ou paludéen, souvent les deux, quelquefois, mais plus rarement, un terrain tuberculeux.

(1) Bonrepaux. *Bull. Soc. médico-chir. Ouest africain*, n° 14, avril 1921.
(2) Lhuerre. *Bull. Soc. médico-chir. Ouest africain*, n° 15, mai 1921.

Les réactions de Wassermann sont généralement positives dans ce pays, chez beaucoup d'indigènes, porteurs ou non de mycétomes. Il peut y avoir d'ailleurs développement du champignon sur des gommes ulcérées alors même que le malade accuse à l'origine la piqûre par une écharde ou une branche d'arbuste, fait difficile à vérifier et qu'il serait cependant intéressant d'élucider au point de vue de l'étiologie de ces infections.

S'agit-il en effet, dans certains mycétomes, de champignons vivant à l'état naturel sur des végétaux et qui s'adapteraient avec facilité à la culture sur le milieu humain? Ou au contraire de parasites de l'espèce humaine, nettement adaptés depuis des millénaires et se transmettant uniquement par contagion d'un individu à un autre? Nous citerons en faveur de cette dernière hypothèse l'une de nos observations où le père et le fils ont été successivement atteints de mycétome à grains noirs et de plus la nécessité où se trouvent les indigènes du Sénégal de se laver le plus souvent les membres inférieurs dans de petites mares d'eau constamment polluées et où ils contractent d'ailleurs, comme l'a fort bien expliqué Roubaud, le ver de Guinée, sur ces mêmes membres inférieurs (1). Chez un de nos malades et chez celui de Bonrepaux (*loc. cit.*), il y avait coexistence du ver de Guinée sur le membre atteint de mycétome et les grains noirs ont apparu dans les orifices d'extraction du Nématode.

L'observation clinique du premier cas de mycétome à grains noirs que nous avons étudié a été présentée à la *Société médico-chirurgicale française de l'Ouest africain* le 30 janvier 1921 par le Dr Jouenne (2).

Nous en résumons ici les détails essentiels :

Ali N' Diaye, quarante-cinq ans, Toucouleur de Bogué (Mauritanie), ancien tirailleur, a été blessé d'un coup de feu, accidentellement, à la jambe droite en 1915. La plaie, désinfectée et soignée aseptiquement, avait parfaitement guéri au bout de deux mois. Trois ans après, en novembre 1918, Ali N' Diaye se serait écorché sur une souche d'arbre. L'œdème serait apparu dès le lendemain. D'après le malade la lésion purulente et à grains noirs aurait

(1) Etudes sur la faune parasitaire de l'Afrique occidentale française (Mission G. Bouet et E. Roubaud). Paris, E. Larose, 1914, 1er fasc.

(2) Jouenne. *Bull. Soc. médico-chir. Ouest africain*, janvier-février 1921. nº 11-12, p. 16.

débuté à ce moment et serait devenue caractéristique au bout de neuf jours. D'ailleurs un examen microscopique pratiqué le 28 novembre, dix-neuf jours après le début des accidents, montrait un feutrage mycélien dans des grains noirs et du pus prélevés dans les ulcérations. Le malade fut réformé et les abcès étant complètement guéris, fut mis exeat. Il y a deux mois, le malade heurte violemment sa jambe contre une pierre ; il s'ensuit de l'œdème et de nouveaux abcès que le sujet rapporte à sa blessure primitive, prenant les grains noirs pour des grains de poudre. Il est hospitalisé à Dakar le 6 janvier 1921.

La jambe droite est déformée et augmentée de volume dans son tiers supérieur et moyen, la partie atteinte formant un cylindre qui se continue

Mycétome à grains noirs de la jambe (A. N'D.).

sans transition avec l'articulation du genou et se raccorde avec le tiers inférieur par une partie conique en forme de rave. Les lésions suppurées commencent au niveau de la tubérosité antérieure du tibia où une surface mamelonnée de la largeur d'une petite paume de main laisse couler du pus à grains noirs par trois cratères. Ces grains s'écoulent sur les compresses, quelques-uns ont atteint le volume d'un pois. Beaucoup restent engagés dans les cratères. Ils se suivent en file au nombre de deux à quatre. On les retire sans difficulté avec une pince ou par simple pression.

D'autres lésions (infiltration, œdème, tubérosités) existent au-dessus, à la face externe du membre et à l'union des tiers moyen et supérieur. Chacune présente soit des tubérosités, soit des cratères entourés de zones de ramollissement et d'œdème. La pression fait sourdre du pus abondamment de ces cratères et donne lieu à une récolte abondante de grains noirs. Culture positive.

La lésion est presque indolore. Légère claudication du membre atteint. Retentissement ganglionnaire presque nul, contrairement à ce que l'on a observé jusqu'ici avec les mycétomes à grains rouges.

L'état général est excellent. L'examen de l'appareil respiratoire seul a montré au niveau du poumon gauche un peu de diminution du murmure vésiculaire et quelques frottements pleuraux. La réaction de Wassermann pratiquée avec le sang de ce malade donne un résultat *positif*. C'est là une constatation fréquente au Sénégal.

Une radiographie effectuée après injection de bismuth dans les trajets a montré l'intégrité du squelette osseux.

Le traitement par l'iodure de potassium à haute dose a été commencé le 10 janvier. Il a amené rapidement une modification dans l'aspect du membre.

Des injections d'éther iodoformé dans les pertuis du mycétome ont été essayées. Sous l'influence de ces médications, la peau est devenue moins œdématiée, le pus s'est modifié, s'est épaissi, est devenu brun chamois, la récolte des grains noirs est moins abondante.

A la date du 24 janvier, le membre malade mesure 41 centimètres de tour à l'union des tiers supérieur et moyen, soit 3 centimètres de moins au bout de quinze jours.

Par la suite ce traitement a été complété par des injections au collargol dans les pertuis, qui ont donné lieu à une guérison complète de la lésion ne laissant qu'un peu de gonflement de la jambe.

La deuxième observation de mycétome à grains noirs a été présentée à la *Société médico-chirurgicale de l'Ouest africain* par le Dr Jouenne, le 13 mars 1921.

Yoro Diallo, originaire de Matam, est envoyé à l'hôpital indigène pour une inflammation chronique du pied, consécutive à un ver de Guinée. Il est atteint de mycétome à grains noirs du pied droit. Ce cas semble résulter d'une *contamination familiale*. Le père du malade serait atteint depuis de nombreuses années de pied de Madura à grains noirs. Yoro Diallo affirme cette particularité qu'il a bien remarquée. Lui-même est malade depuis deux ans.

Il a eu d'abord un ver de Guinée au niveau du bord externe du pied droit; ce ver a été extrait par la méthode indigène (tractions prudentes sur le ver dont l'extrémité est attachée à un lien autour de la cheville). Il ne portait aucun pansement et habitait le même carré que son père. Peu de temps après l'extraction du ver, alors que la plaie n'était pas encore cicatrisée, il vit se développer à ce niveau une petite tuméfaction de la grosseur d'une bille. Elle augmenta peu à peu de volume et au bout de quinze jours finit par s'ulcérer en formant une plaie qui devint large comme une paume de main. Les lésions sont restées en cet état pendant sept mois environ, n'empêchant pas Yoro Diallo de vaquer à ses occupations. Il cultivait la terre, et par suite a pu venir de Matam à Rufisque à pied. C'est deux mois après son arrivée dans cette ville qu'il remarqua des pertuis laissant échapper des grains noirs. La lésion s'étend sur la face dorsale du pied droit depuis le premier espace interosseux jusqu'au bord externe du pied. En arrière, elle ne dépasse pas l'extrémité postérieure des métatarsiens; la face plantaire paraît saine; à la face dorsale se trouvent 11 pertuis sur la partie atteinte qui mesure 10 centi-

mètres de longueur sur 6 de largeur. Ces pertuis laissent échapper des grains noirs typiques.

L'état général du malade est bon.

Une réaction de Wassermann s'est montrée positive.

Mycétome à grains noirs du pied (Y. D)

La radiographie a montré la nécrose des phalanges des quatrième et cinquième orteils.

Les essais de culture sur Sabouraud, carotte, etc., n'ont fourni que des résultats négatifs, soit à 35°, soit à 38°,5.

Troisième observation (résumée). — Mycétome à grains noirs de la cuisse droite, de la hanche, et de la fesse droite. (Présentée par le Dr Jouenne à la *Société médico-chirurgicale de l'Ouest africain*, le 22 mai 1921.)

Demba Camara, Toucouleur, originaire de Kaédi (Mauritanie) a vécu en Europe en 1914, puis s'est fixé à Dakar et a voyagé à Thiès et dans le Baol. Le malade, cachectique avancé, ne peut donner que des renseignements contradictoires sur le début de son affection. Entré le 29 avril à l'hôpital indigène pour « syphilis tertiaire et amaigrissement considérable », il présente une large cicatrice dépigmentée, couturée, gaufrée, de la fesse à la cuisse, en arrière du grand trochanter; vers le milieu de la cuisse, à la face antéro-interne, une gomme ulcérée à bords taillés à pic laissant suinter

une sérosité louche. Tout autour de la cicatrice supérieure, on remarque des lésions de rupia d'environ 3 centimètres de long sur 2 de large. Or, un matin, au pansement, des grains noirs apparaissent dans la sérosité de la gomme située au milieu de la cuisse et, en soulevant les croûtes de rupia, on aperçoit les pertuis du mycétome, taillés à pic, sans marge périphérique dépigmentée. Certains grains noirs sont comme des grains de cassis. Ces grains remplissent 2 centimètres de hauteur d'un tube à essai dès le premier jour. Leur ensemencement à l'Institut de Biologie a donné lieu à des cultures identiques à celles de la première observation (Ali N' Diaye).

La région fessière et la région sacrée sont envahies par le mycétome qui commence à infiltrer la fesse gauche, avec des pertuis rares sur le sacrum, vers le coccyx, vers le trochanter, etc. Toute la région est chaude, tendue, luisante, œdématiée. Une injection d'éther iodoformé poussée par l'un quelconque de ces trajets ressort par tous les autres, entraînant des grains noirs par grosses masses agglomérées.

Ce mycétome aurait débuté il y a plus de deux ans. Il est possible qu'il se soit développé sur une lésion syphilitique tertiaire, ce qui expliquerait sa disposition atypique. La réaction de Wassermann n'a pu être faite, le malade étant mort peu de jours après son entrée à l'hôpital.

La dissection de la fesse du sujet a montré non un décollement profond, mais un tunnel, admettant une sonde urétrale moyenne, cheminant dans le tissu cellulaire sous-cutané et dans la partie superficielle du grand fessier. Ce tunnel traversait toute la fesse en diagonale, de la crête iliaque à la région coccygienne et formait un cordon dur, fibreux, arrondi, de 1 centimètre à 1 centimètre 1/2 d'épaisseur enfoui au milieu des tissus sains. L'épaisseur de la paroi fibreuse variait de 4 à 5 millimètres. Toute la paroi de ce canal était recouverte d'une sorte de gelée adhérente, de couleur gris noir, cette couleur étant due aux petits grains du champignon qui recouvraient toute la paroi du canal en couche continue, tandis que les grains plus volumineux obstruaient la lumière du conduit.

Il semble, en somme, que dans quelques mycétomes à grains noirs du Sénégal, le type s'éloigne du pied de Madura classique. Le mycétome donne lieu à des trajets qui cheminent parallèlement à la peau, à un ou deux centimètres de profondeur, et forment de petites cavités allongées, de figure irrégulière, qui sont des dilatations des canaux.

« La lésion du mycétome à grains rouges paraît tout à fait différente : c'est une masse encore franchement néoplasique, exubérante, enfermée dans une épaisse coque fibreuse ayant partout remplacé les tissus normaux, entièrement homogène, sans cavités, sans géodes, sans pertuis même. Les grains rouges sont répartis également dans toute la néoplasie. Le tissu osseux est atteint, les petits os sont raréfiés, spongieux et les parois osseuses perforées par place, le champignon s'infiltrant dans le canal médullaire.

« Le mycétome à grains noirs, affection caractérisée par des galeries cheminant sans désordres anatomiques au milieu des tissus d'apparence saine, à tendance peu maligne, sans néoplasie notable, est essentiellement curable par des moyens médicaux, à moins de lésions trop anciennes, à infections secondaires..... »

(Dr Jouenne.)

Etude macroscopique des grains.

Les grains noirs s'échappent avec la plus grande facilité des pertuis et même, sur un fragment excisé de la tumeur, on les voit libres dans les anfractuosités. Les plus petits sont comme une tête d'épingle, les plus volumineux comme une lentille. De forme irrégulière, de couleur noire, ils ressemblent généralement à des grains de poudre de chasse. Rénitents et difficiles à écraser, ils se laissent dissocier après traitement par la potasse à chaud.

Leur nombre est considérable ; dans un cas nous en avons recueilli pendant plusieurs semaines 10 ou 12 tous les matins et davantage, il en réapparaissait néanmoins tout autant les jours suivants.

Après lavage à l'eau physiologique à plusieurs reprises, bien débarrassés de la sérosité, du pus et des bactéries, ils conservent leur couleur noire et la gardent également après un long séjour dans l'alcool et dans l'éther.

Etude microscopique.

La structure des grains se montre identique dans les trois cas.

Après traitement par la potasse à chaud d'abord, puis à froid pendant quelques heures, les grains s'effritent facilement en granules secondaires qui s'écrasent sous une lamelle et peuvent être ainsi examinés au microscope. Ils sont hérissés, l'aspect *en buisson* en est caractéristique et si, à un faible grossissement, à la loupe, le grain humide ressemble à du caviar, il n'en est pas de même à un grossissement de 40 à 50, le buisson apparaît formé de filaments incolores ou légèrement brunâtres

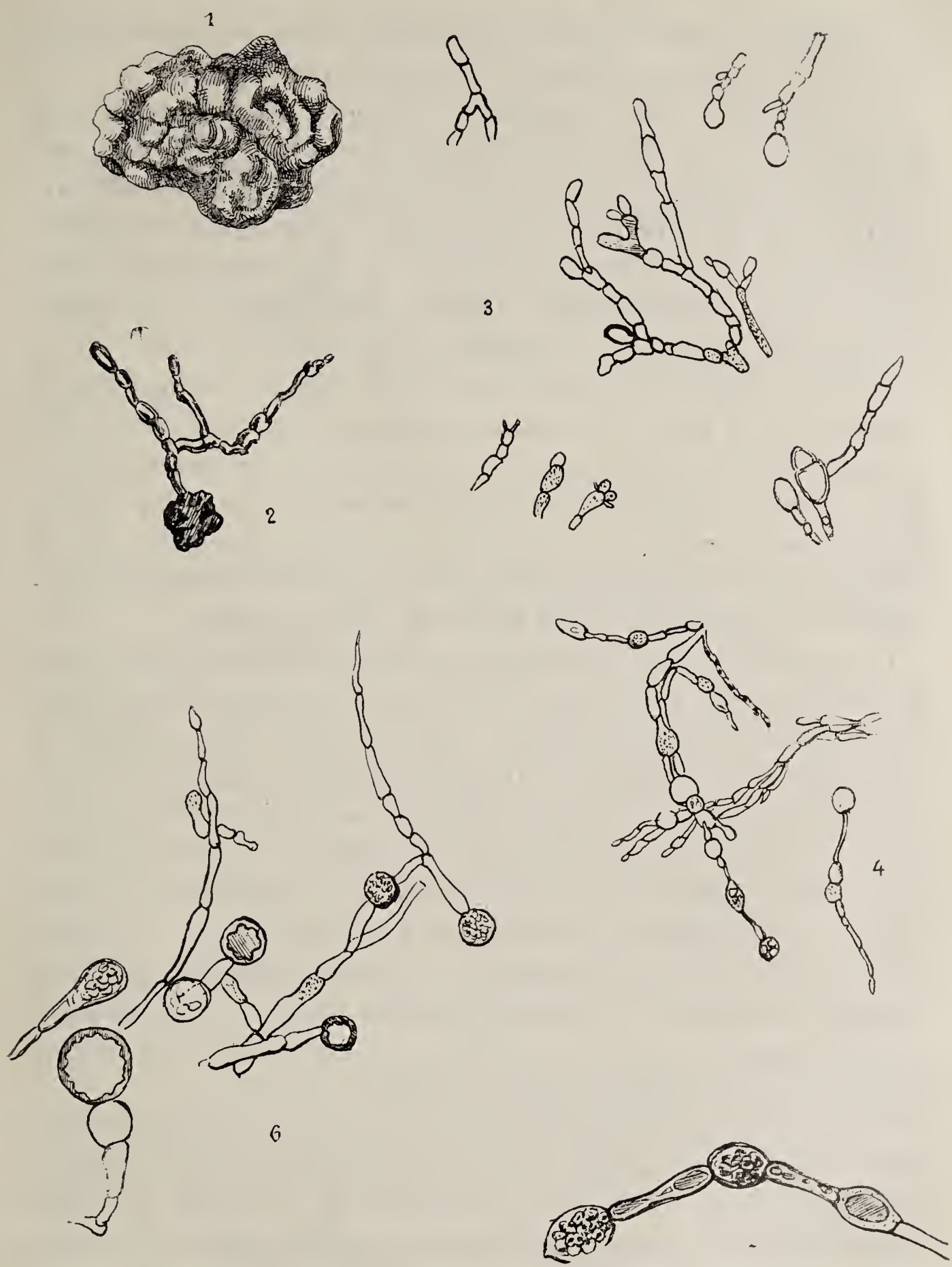


Fig. 1. — Grain noir encore humide, extrait du mycétome, à un faible grossissement.

Fig. 2. — Début de la germination, en culture cellulaire.

Fig. 3. — Formes de division du filament composant le grain noir, après traitement par la potasse, et dissociation (Gros. : 280 D.).

Fig. 4. — Hyphes et chlamydospores, après culture sur gélose glucosée de Sabouraud (Gros. : 280 D.).

Fig. 5 et 6. — Chlamydospores terminales et intercalaires vues à l'objectif à immersion homogène (Gros. : 760 D.).

qui émergent plus ou moins parallèles, plus ou moins entrecroisés, d'une masse compacte de teinte brun foncé.

Ces filaments sont cloisonnés. Chaque article mesure en moyenne de 5 à 15 μ de longueur sur 3 à 5 μ de largeur. Souvent ce diamètre varie. Certains filaments vont en s'effilant, d'autres ont des positions intercalaires plus larges, d'autres présentent des renflements ovoïdes ou sphériques sur leur trajet, ce sont de véritables spores intercalaires. Ces spores mesurent de 16 à 25 μ de diamètre (fig. 1, 2, 3).

Dans les tissus, en outre des grains noirs volumineux et visibles à l'œil nu, se trouvent des grains beaucoup plus petits et autour des uns et des autres, les leucocytes, les macrophages et les cellules endothéliales sont bourrées de pigment brunâtre qui devient verdâtre ou vert noirâtre après coloration par la thionine ou le bleu polychrome et qui provient vraisemblablement de la phagocytose des débris du champignon.

L'isolement est rendu difficile sur les milieux sucrés à cause des bactéries qui vivent dans les cavités où sont logés les grains noirs dans les lésions ouvertes. Mais on peut suivre d'abord le champignon en culture cellulaire pendant quelques jours, même au Sénégal, si l'on a soin d'ajouter dans la cavité de la lame une trace de milieu nutritif (bouillon ou gélose sucrée). Dans ces conditions on voit la ramification du thalle soit obliquement, soit perpendiculairement à l'axe principal et l'apparition, sur certaines extrémités de filaments (non élargies), de bourgeons rappelant de petites phialides (fig. 3). De nombreuses chlamydospores, les unes terminales, les autres intercalaires sont également visibles dans les mêmes conditions.

L'isolement a été effectué à 35°; mais après quelques jours d'étuve à 35° nos cultures continuaient à pousser à 22° quoique plus lentement. Toutefois c'est entre 38°,5 et 39° que nous avons jusqu'ici obtenu les pousses les plus rapides et les plus belles, tandis que d'autres passages successifs se développaient modérément à 35°. Cette exubérance des cultures aux environs de 39° indique une tendance thermophilique de ces organismes sur laquelle des recherches plus avancées seront nécessaires. Il est préférable cependant, à cause de l'envahissement par les bactéries, d'essayer les premières cultures à 35°.

C'est à 39° également que nous avons obtenu le plus fré-

quemment sur Sabouraud glucosé les grains noirs caractéristiques soit dans l'intérieur de la gélose, soit au milieu de colonies grisâtres, en surface, après plusieurs passages, ce qui montre qu'il ne s'agit pas dans la production du grain noir d'une modification imprimée par l'organisme hôte, par le sérum ou les humeurs, mais d'une propriété spéciale du champignon qu'il a commune avec *Madurella Tozeuri* ou *M. Tabarkæ*. Les grains noirs des cultures sont identiques comme constitution à ceux que l'on retire des tissus du malade. Ce sont des sclérotes formés par l'enchevêtrement des ramifications et spores du champignon (fig. 4, 5, 6).

Caractères des cultures.

Il faut ensemencer un assez grand nombre de tubes fraîchement préparés, en dissociant les grains autant que possible à la surface de la gélose pour avoir un résultat positif.

Sur *gélose glucosée de Sabouraud*, se forment deux sortes de colonies, les unes arrondies, brunes, d'apparence un peu humide et légèrement chagrinée, les autres duveteuses, brunes mais à efflorescences blanchâtres. On trouve des types intermédiaires entre ces deux sortes de colonies. Au bout de quelques jours de culture à 39° le milieu brunit. Puis apparaissent, disséminés à la surface des grosses colonies blanchâtres, de petits grains noirs qui deviennent plus ou moins volumineux et dont la grosseur varie de celle d'une petite tête d'épingle à celle d'un grain de tapioca.

Il est à noter que certaines colonies forment des grains qui restent blancs. Il y a ici une analogie manifeste avec certains *Aspergillus* qui donnent des grains tantôt blancs, tantôt noirs, mais ce caractère biologique général de la variation dans la production du pigment n'autorise pas une identification de notre champignon avec un *Aspergillus*.

Sur *bouillon peptoné*, apparaissent en quelques jours des colonies duveteuses, blanchâtres, qui flottent dans l'intérieur de la masse liquide. Une membrane d'apparence plissée et tomenteuse se forme en outre à la surface. Au bout de plusieurs semaines on voit apparaître, au milieu des masses duveteuses, des grains noirs de 1 à 2 millimètres de diamètre.

En *eau peptonée*, mêmes caractères.

Sur *gélose ordinaire*, inclinée, le développement est moins abondant que sur le milieu de Sabouraud. Les colonies sont brunâtres, d'autres sont grises ou d'un blanc grisâtre.

Sur *gélatine à* 18-20°, une membrane plissée se développe lentement à la surface, tandis qu'au-dessous le milieu, de jaune qu'il était, prend une teinte brun rouge, terre de Sienne et la liquéfaction se produit peu à peu sans aucun trouble. Dans la profondeur, de petites colonies isolées, brunâtres, apparaissent, mais elles restent de petit volume et ne se réunissent pas les unes aux autres.

Sur *pomme de terre*, le champignon fournit un riche développement d'abord gris souris, puis brunâtre, avec des colonies plus ou moins pigmentées. Il y a un léger brunissement du milieu sous-jacent (pl. I, tube 3).

Développement abondant sur *carotte*. De couleur gris brunâtre les colonies renferment des grains noirs plus ou moins volumineux dans les replis de leur couche mamelonnée, tomenteuse, bourgeonnante (tube 2).

Développement plus précaire sur *navet*, presque nul sur *aubergine* et sur *banane*.

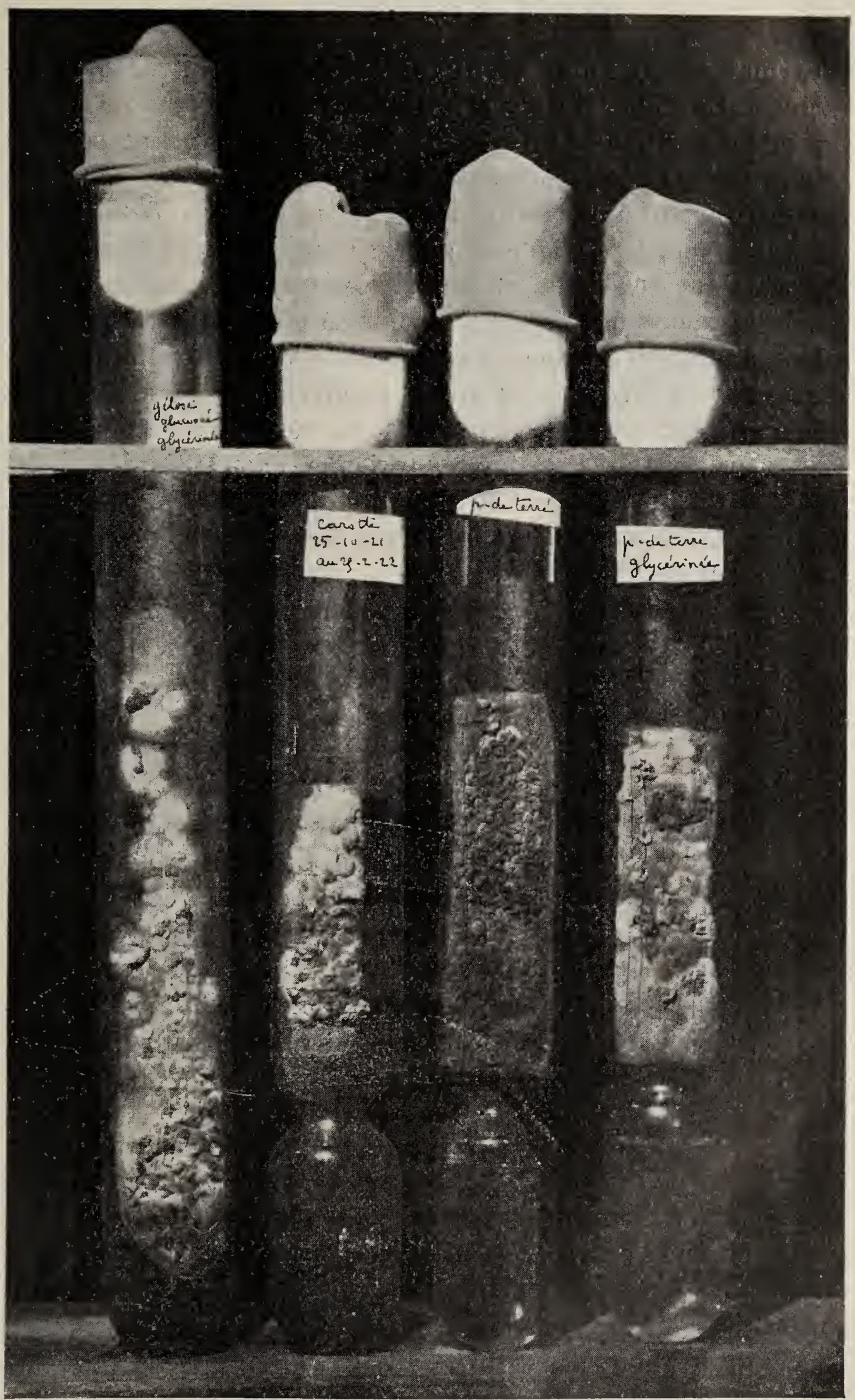
Faible développement sur *sérum coagulé*.

Le lait, le *lait tournesolé* ne sont pas modifiés après quelques jours à l'étuve, seule la surface se recouvre d'une membrane épaisse, plissée et noirâtre, mais à la longue, après trois ou quatre semaines, les parties supérieures du lait noircissent légèrement et prennent une teinte plombée.

Sur les milieux glycérinés (gélose de Sabouraud, pomme de terre, carotte), la morphologie est semblable; toutefois les propriétés pigmentaires sont un peu atténuées, la production des grains noirs est ralentie mais réelle, le brunissement des milieux moins prononcé. Il y a manifestement une action défavorable exercée par la glycérine (tubes 1 et 4).

Polymorphisme des cultures.

Les cultures de ce champignon se présentent sous deux aspects différents sur un même milieu : ce sont, sur gélose glucosée peptonée, tantôt des touffes d'un blanc grisâtre, tantôt



Cultures de mycétome à grains noirs : de gauche à droite, tube 1, grains noirs et grains blancs sur gélose glycérinée ; tube 2, sur carotte ; tube 3, sur pomme de terre ; tube 4, sur pomme de terre glycérinée, toutes cultures âgées de quatre mois.

des masses arrondies à surface mousse ou légèrement chagrinée. Ce dimorphisme est lié à l'humidité plus ou moins grande du milieu : le deuxième aspect s'accompagne souvent d'un arrêt de développement dans la culture ; il serait dû vraisemblablement à une forme dégénérative du champignon.

A la loupe, les colonies duveteuses apparaissent comme des éponges encore humides. Au microscope, elles présentent de longs filaments qui s'effilent de plus en plus et dont les dimensions atteignent à peine 1 μ de diamètre à leur extrémité libre. Les colonies arrondies et lisses montrent au microscope des filaments fragmentés en granulations très réfringentes qui se dissocient, quand la colonie est ancienne, dans le liquide d'examen et qui sont le résultat de la dessiccation. C'est également la dessiccation qui donne aux spores terminales une apparence flétrie et granuleuse (fig. 7).

Dans les milieux liquides, on obtient de longs filaments, à bourgeonnement asymétrique, finement ponctués de grains réfringents (fig. 8).

Colorations.

Aucune des portions du champignon des mycétomes ne se colore par la méthode de Gram, soit dans les tissus, soit en cultures. Les noyaux retiennent cependant à un degré variable le colorant.

Sur les coupes, l'hématéine, le triacide, le bleu polychrome, la thionine phéniquée donnent de belles colorations différentielles, mais les chlamydospores ne se laissent pas toujours imprégner par le colorant.

Pigment noir.

Le champignon, incolore à l'état jeune, brunit à mesure que sa membrane s'épaissit. Sa teinte générale varie alors du marron clair au marron foncé. A mesure que le grain grossit, il brunit davantage et devient noir.

Les grains noirs des cultures comme ceux des tissus humains sont des sclérotes formés par l'enchevêtrement des filaments à nombreuses chlamydospores à parois épaissies et brunes. La

condensation des parois de ces spores brunes réalise une masse de couleur noire à l'œil nu et aux faibles grossissements.

Si on lave le grain à l'eau distillée, puis à l'alcool fort et à l'éther, la teinte reste noirâtre, un peu plus pâle à la périphérie.

Ch. Nicolle et G. Blanc (*loc. cit.*) ont montré, au cours de leur étude sur la *Madurella Tozeuri*, que l'origine du pigment noir de ces champignons est dans leur action sur la

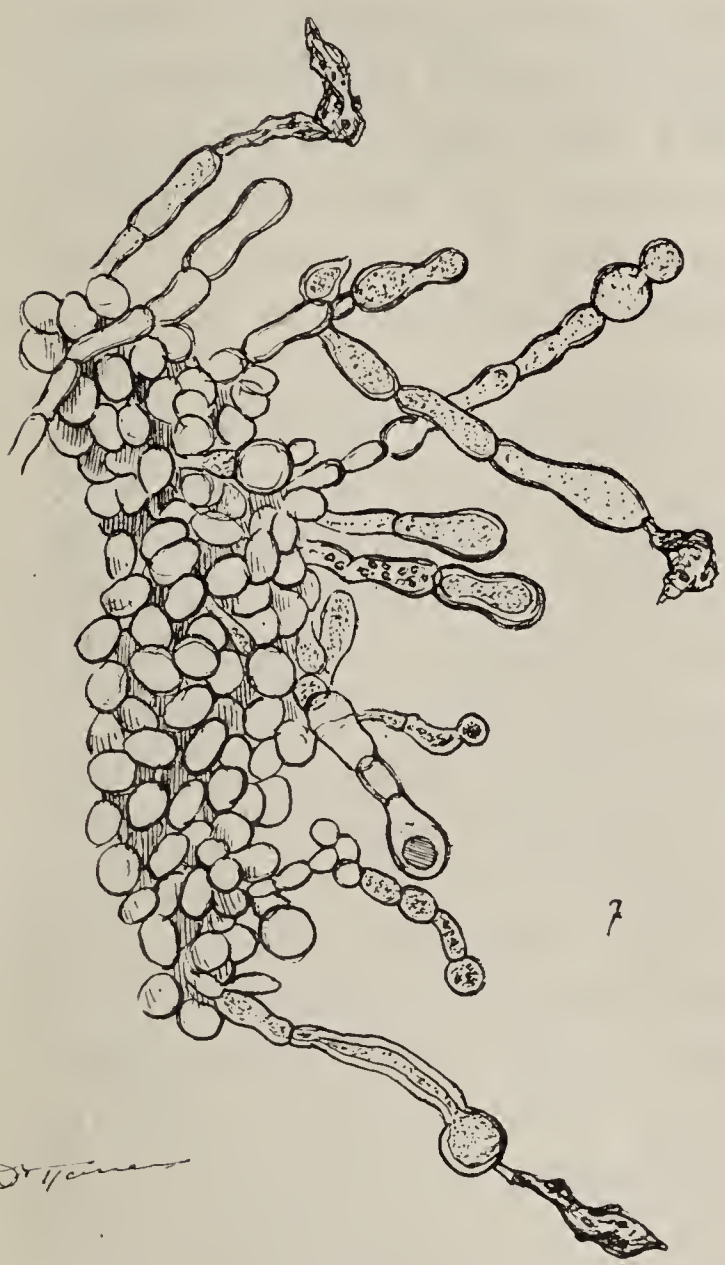


FIGURE 7.

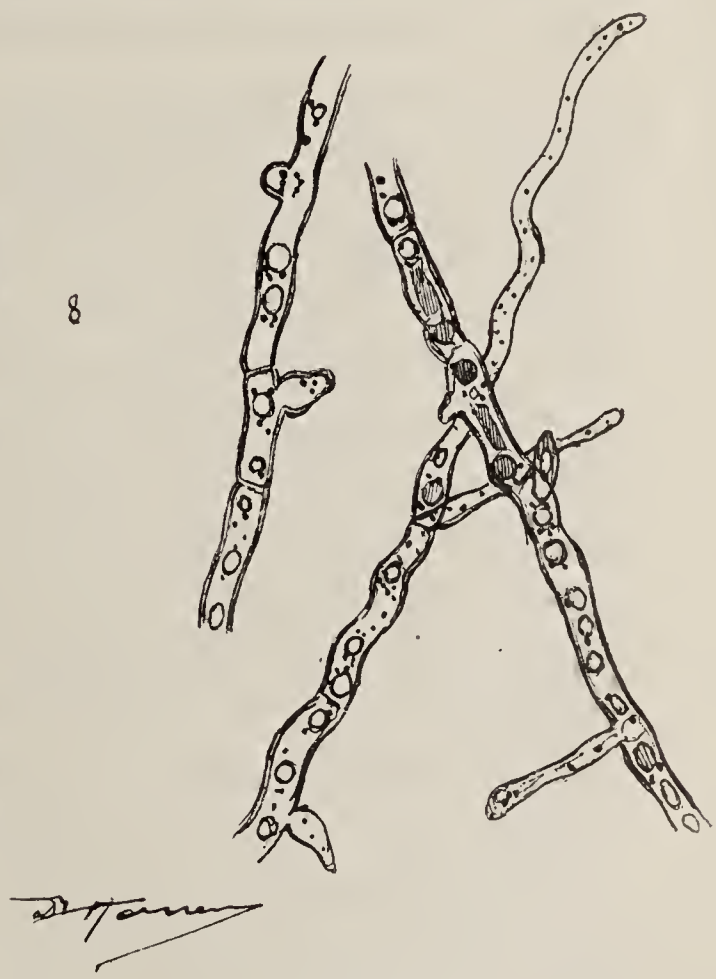


FIGURE 8.

FIG. 7. — Culture sur Sabouraud acide, âgée de quinze jours (début de dessiccation).

FIG. 8. — Culture en milieu liquide (eau de carotte), au bout de neuf jours (Gros. : 760 D.).

tyrosine en présence de certains hydrates de carbone, soit dans l'organisme, soit sur les milieux de culture sucrés.

Cette production de pigment rentre d'ailleurs dans les phénomènes de mélanogénèse observés dans les liquides et tissus de l'organisme végétal ou animal et dont le mécanisme a été

étudié et minutieusement décrit par Gabriel Bertrand (1), Gessard, etc. (2) (transformation de la tyrosine sous l'influence de la tyrosinase et par oxydation incomplète).

Anatomie pathologique.

Les lésions des mycétomes ont été soigneusement décrites et figurées par Brumpt et Langeron dans les traités classiques.

Sur les coupes du mycétome à grains noirs du Sénégal, on voit les grains dans une même cavité, les uns adhérents aux parois, les autres libres, baignant dans le pus formé de leucocytes, de bactéries et de produits de désintégration des tissus environnants. Ces grains sont composés de filaments moniliformes à spores difficilement colorables et noyés dans une épaisse substance interstitielle noirâtre; ceux qui sont adhérents s'irradient dans les tissus sains par leurs filaments qui suivent les capillaires et les espaces interstitiels et peut-être aussi par transport leucocytaire des débris de thalle ou des spores : en effet, après coloration par le bleu polychrome ou l'hématéine, on voit les leucocytes et les cellules endothéliales chargés de gros blocs d'une substance verdâtre ou jaunâtre, suivant le colorant et qui paraît résulter de l'englobement phagocytaire du champignon. Les filaments cloisonnés qui s'infiltrent dans les tissus sont parsemés de masses ovoïdes prenant difficilement la couleur et qui sont les chlamydospores. On n'observe pas de forme de fructification supérieure.

Schématiquement, on peut distinguer trois zones autour du grain noir au point de vue de la diffusion du parasite : 1° une zone de fonte cellulaire autour du sclérote (zone de destruction); 2° une zone d'infiltration des filaments dans les capillaires (zone de pénétration); 3° une zone de défense par les macrophages qui sont bourrés des débris granuleux du champignon (zone de défense).

Dans les cas observés jusqu'ici, à l'exception du mycétome du pied (obs. II), les os ne sont pas atteints et la maladie est localisée à la peau et au tissu cellulaire sous-cutané.

(1) G. Bertrand. Ces *Annales*, 1908, **22**, p. 381.
(2) Gessard. *C. R. Acad. Sciences*, 1903 et 1904.

Inoculations.

Nos essais expérimentaux sont restés négatifs avec des cultures sur Sabouraud broyées dans du bouillon ou des cultures en bouillon. L'injection dans la veine marginale de l'oreille du lapin est restée négative, de même que l'injection dans la patte du pigeon qui avait donné un résultat à Pinoy avec *Madurella mycetomi* et à Ch. Nicolle et Pinoy avec *Madurella Tozeuri* (1).

Identification botanique.

Les champignons que nous avons cultivés dans les cas de mycétome à grains noirs du Sénégal donnent des sclérotes noirs dans les milieux de culture. Ils sont cloisonnés et leur thalle se divise comme dans le genre *Madurella* Brumpt en donnant lieu à un enchevêtrement de filaments moniliformes à chlamydospores intercalaires ou terminales. Nous n'avons vu ni formes de fructification supérieure, ni aleuries après plusieurs mois. Provisoirement ces champignons doivent être classés dans le genre *Madurella*. Les caractères que nous avons décrits (morphologie, caractères biochimiques, thermophilie) les rapprochent assez manifestement de *Madurella mycetomi* Laveran qui a été cultivée pour la première fois par J. Brault, en 1911, et dont les cultures avaient été, il est vrai, obtenues d'emblée à 20°, mais que Puyhaubert et Jolly ont cultivée, nous l'avons vu, à 37°. *Madurella mycetomi* est, en effet, très répandue en Afrique, d'après Pinoy (2). Nos champignons se rapprochent, sans doute, de *Madurella Tozeuri* et de *Madurella Tabarkæ*, mais on ne peut les identifier à ces deux espèces. En effet, *Madurella Tozeuri* ne donne que très rarement à la surface de la gélose des ébauches de sclérotes, et ses grains noirs sont constitués par une boucle mycélienne renfermant des éléments cellulaires dégénérés, imprégnés du pigment du champignon; elle liquéfie la gélatine, elle est inoculable au

(1) E. Pinoy. *Bull. Inst. Past.*, **11**, 15 et 30 novembre 1913.
(2) J. Brault. *Ann. dermat. et syphil.*, juin 1912 (avec note additionnelle de Pinoy).

pigeon; *Madurella Tabarkæ* n'a pas le pouvoir gélatinolytique, n'a pas la thermophilie des champignons sénégalais, est inoculable au pigeon. Ses grains ont cependant une constitution voisine de celles des nôtres.

En raison de ces différences notables, nous croyons devoir rattacher les champignons cultivés à Dakar à l'espèce *Madurella mycetomi* dont la biologie mérite d'ailleurs des recherches plus approfondies. M. Langeron, chef de laboratoire à la Faculté de Médecine de Paris (Laboratoire de parasitologie), à qui nous en avons soumis les cultures, a bien voulu donner l'appui de sa haute compétence à nos observations et nous sommes heureux de lui adresser ici tous nos remerciements.

Traitement.

Le traitement des mycétomes à grains noirs n'est pas purement chirurgical. Lorsque les lésions ne sont ni étendues au système osseux, ni très anciennes, l'iodure de potassium et le novarsénobenzol associés ou non au collargol à l'extérieur et à de petites interventions (curettage, grattage, lavages à l'éther iodoformé) peuvent amener la guérison assez rapidement. Nous n'avons pas cru devoir tenter la vaccinothérapie sur laquelle récemment Montpellier fondait quelque espoir (1). Au fur et à mesure que nos dispensaires et nos préventoria seront mieux organisés et plus nombreux en Afrique occidentale française, le diagnostic précoce de ces affections et, par suite, le traitement médical pourront être assurés plus fréquemment, et l'on ne sera que rarement obligé d'arriver à des amputations pour une affection qui n'a pas tendance à se généraliser.

L'éducation prophylactique des indigènes est ici, comme pour les maladies vénériennes et la tuberculose tout entière à poursuivre, et c'est le rôle, déjà rempli avec succès, de nos auxiliaires indigènes, les élèves de l'Ecole de Médecine de l'Afrique occidentale française qui, sous le contrôle des médecins-chefs des dispensaires, assurent le diagnostic précoce et le traitement des affections cutanées. La disparition définitive de celles de ces affections qui atteignent les membres infé-

(1) *Bull. Soc. Path. exot.*, janvier 1922.

rieurs et qui sont les plus fréquentes surviendra avec le port du vêtement européen (pantalon et chaussettes) et d'une chaussure résistante et protectrice contre les broussailles poussiéreuses des sentiers et la boue des marigots.

La lutte incessante contre la syphilis et le paludisme par les moyens médicaux, économiques et sociaux, permettra soit de supprimer les porte d'entrée, soit d'améliorer un terrain favorable aux mycoses.

DE LA PATHOGÉNIE DU CHOLÉRA

(SIXIÈME MÉMOIRE)

LE "CHOLÉRA INTESTINAL" DES JEUNES CHIENS

par le Professeur G. SANARELLI,
Directeur de l'Institut d'Hygiène de l'Université de Rome.

L'action pathogène du vibrion cholérique chez les jeunes chiens a été étudiée par Metchnikoff (1) et par Karlinski (2).

Les expériences de Metchnikoff portent sur deux seuls animaux d'un jour, à qui il administra une culture entière de vibrions de Massaoua. Le résultat fut négatif, malgré une deuxième ingestion de vibrions pratiquée le jour suivant. Deux semaines après, Metchnikoff trouva dans le rectum de l'un de ses petits chiens, qu'il sacrifia, quelques vibrions. Il en déduit que ces vibrions, ayant pu échapper à l'action meurtrière de l'estomac, s'étaient conservés vivants dans l'intestin sans pouvoir, toutefois, y produire le choléra.

Les recherches de Karlinski portent sur différents groupes de chiens nouveau-nés. Pendant plusieurs jours, ils furent nourris de lait abondamment ensemencé de vibrions; quelques-uns de ces jeunes animaux accusèrent de la diarrhée et cessèrent de vivre au bout d'un à cinq jours. La plupart survécurent.

Ces quelques petits chiens morts, présentèrent à l'autopsie les caractères de l'entérite avec la présence, dans le contenu intestinal, de vibrions. Mais, à cause des conditions défavorables dans lesquelles l'auteur lui-même déclare avoir dû travailler, ces résultats ne donnent pas non plus une indication précise et satisfaisante sur la manière de se comporter des vibrions cholériques administrés *per os* chez les jeunes chiens.

(1) METCHNIKOFF, Recherches sur le choléra et les vibrions. IVe mémoire. Ces *Annales*, 1894, p. 529.

(2) KARLINSKI, Die Vibrioneninfektion per os bei jungen Tieren. *Centr. für Bakter.*, 1896, **20**, p. 150.

Aussi ai-je cru nécessaire de reprendre cette question en l'abordant après avoir, au préalable, établi quelques points essentiels la concernant.

I. — Vibrions et sucs digestifs.

Ces recherches préliminaires ont eu pour but la manière de se comporter des vibrions dans le sérum du sang, dans le suc gastrique et dans le suc entérique des chiens.

L'action du sérum sanguin du chien sur les vibrions cholériques varie quelque peu, selon l'âge de l'animal et encore selon la race. D'une façon générale, le sérum des chiens adultes est nettement vibrionicide. Si dans 1 cent. cube de sérum on délaye une anse normale chargée d'une suspension de vibrions, obtenue comme d'habitude en émulsionnant 1/10 de culture sur gélose en 10 cent. cubes de solution physiologique, on constate que, au bout d'une ou deux heures, tous les vibrions sont morts.

Au contraire, le sérum sanguin des chiens nouveau-nés est, ainsi que le sérum du sang des lapins qui viennent de naître, entièrement dépourvu d'action microbicide. Les vibrions qu'on y introduit s'y développent abondamment, comme dans un excellent milieu de culture.

Cependant ce pouvoir microbicide s'y manifeste beaucoup plus tôt que chez les jeunes lapins. Ainsi, en pratiquant l'essai dans les mêmes proportions que je viens de signaler, la mort des vibrions se produit déjà au bout de cinq à six heures avec le sérum des jeunes chiens de quatre à cinq jours, et de quatre heures seulement avec le sérum des chiens de douze jours.

A l'égard du suc gastrique, j'ai mesuré l'acidité de 1/2 cent. cube de liquide, recueilli presque limpide, dans l'estomac d'un petit chien nouveau-né et qui n'avait pas encore tété. Calculée en acide lactique, cette acidité était de 0,47 p. 100 seulement, c'est-à-dire correspondait à une dilution d'acide lactique à 1/213. Chez les jeunes chiens, le suc gastrique doit être donc envisagé comme une véritable barrière contre l'envahissement, par la bouche, des vibrions. Une acidité gastrique équivalente à une solution de 5 p. 1.000 d'acide lactique tue sûrement, au passage, les vibrions.

J'ai étudié le suc entérique seulement sur deux chiens adultes, opérés de fistule intestinale, par la méthode de l'anse isolée de Thiry-Vella.

Le contenu de l'intestin grêle, chez les chiens à jeun depuis vingt-quatre heures, est par lui-même presque stérile. S'il est recueilli dans la fistule après une simple excitation mécanique, centrifugé et additionné de vibrions et maintenu à l'étuve, il apparaît très peu propice à leur développement. La plupart y disparaissent rapidement et ceux qui survivent s'y multiplient en très faible mesure, ainsi que le montrent les préparations où l'on ne rencontre, par chaque champ de microscope, que quelques rares individus, deux à quatre, parmi lesquels les formes allongées et filamenteuses dominent.

Les ensemencements pratiqués avec le B. coli dans le suc entérique sont encore moins fertiles. Aucun d'eux ne s'y développe, tous y dégénèrent, s'y déforment et y disparaissent progressivement. Au bout de quarante-huit heures, on n'y décèle que quelques colonies et, trois jours après, tous les colibacilles y sont morts.

Le suc entérique normal du chien est donc un très mauvais milieu nutritif, autant pour les vibrions que pour les colibacilles.

J'ai voulu vérifier si en administrant longtemps aux chiens le protéide des vibrions du choléra, en l'injectant dans l'anse intestinale isolée, le suc entérique acquérait des propriétés spécifiques.

A cet effet, j'ai continué, pendant un mois tout entier, à injecter jour par jour, dans l'anse intestinale isolée d'un chien de 7 kilogrammes, deux cultures de vingt-quatre heures, sur gélose, dissoutes par la pancréatine. A la fin de ce traitement, le pouvoir agglutinant du suc entérique était encore nul. Le sérum du sang, qui, avant le début de l'expérience, agglutinait le vibrion de l'Isonzo à la dilution de 1/10, à la fin n'avait guère acquis un pouvoir plus considérable, n'agglutinant qu'à la dilution de 1/25, signe évident que seulement une partie minime du protéide injecté dans l'anse intestinale, pendant une si longue période, avait été absorbée.

Je pensai alors à injecter le protéide du vibrion cholérique sous la peau ou dans la veine. Je poursuivis ainsi cette nou-

velle administration pendant deux autres mois, en injectant en tout dix-huit cultures solubilisées sous la peau, et presque deux anses de cultures tuées par le toluol, dans la veine. Je trouvai alors que le suc entérique, tout en demeurant au bout de ces nouvelles injections un bien médiocre milieu pour les vibrions, avait gagné vis-à-vis d'eux un degré sensiblement plus élevé de pouvoir agglutinant. Celui-ci, d'ailleurs, n'allait pas au delà de 1/25 à 1/50. Par contre, le pouvoir agglutinant du sérum sanguin avait atteint, dans le même espace de temps, les chiffres élevés de 1/500 et de 1/1.000.

Ce qui démontre nettement que lorsque le pouvoir agglutinant du sérum du sang a atteint un haut degré, le suc entérique en ressent une certaine influence, quoique très légère. En effet, dans les ensemencements pratiqués dans le suc entérique, dont le pouvoir agglutinant avait atteint le rapport de 1/25, on remarquait que les vibrions se développaient très mal et s'y agglutinaient à l'état naissant, comme dans la réaction bien connue de Bandi.

II. — Infections vibrioniennes parentérales.

Comment réagissent les jeunes chiens aux inoculations de vibrions?

On sait que les chiens adultes sont réfractaires aux injections sous-cutanées de vibrions cholériques. Les chiens, nouveau-nés, au contraire, y sont très sensibles. J'ai pu expérimenter sur treize sujets provenant de sept portées différentes, aussitôt nés, dans le chenil même du laboratoire.

Je résumerai quelques-unes de ces expériences.

Expérience I. — Petit chien de berger, de 350 grammes, né depuis douze heures. Il reçoit sous la peau deux anses normales d'une culture de vingt-quatre heures. Il meurt le lendemain. On trouve à l'autopsie une très forte infiltration hématique riche en vibrions, à la place de l'inoculation. A l'ouverture de l'abdomen, on constate les signes d'une intense gastro-entérite. La muqueuse de tout le tube digestif est tuméfiée, rouge et presque hémorragique. Le contenu de l'estomac, légèrement *alcalin*, est riche en B. coli et en vibrions. D'innombrables amas de B. coli mélangés à des vibrions le long de tout l'intestin grêle. La vessie urinaire est contractée : elle renferme quelques gouttes d'un liquide trouble qui coagule à la chaleur. Les cultures du sang révèlent l'existence d'une grande

quantité de vibrions mélangés à un certain nombre de B. coli. Les vibrions se rencontrent également dans la vessie urinaire et dans la vésicule biliaire.

Conclusion : il s'était produit une septicémie vibrionienne avec une très intense altération de la muqueuse gastro-intestinale, abondante sécrétion de vibrions et réveil conséquent des colibacilles, leur pullulation intestinale avec envahissement du sang.

Expérience II. — Petit chien fox-terrier de 250 grammes, de dix heures. Il reçoit sous la peau deux anses de vibrions. Mort en vingt-quatre heures, avec le tableau anatomique d'une gastro-entérite hémorragique de très grande intensité. L'intestin, dans toute sa longueur, est de couleur noirâtre. Le contenu du duodénum au côlon apparaît constitué par une bouillie sanguinolente. Celui de l'estomac, d'aspect hématique, fluide et filant par d'abondant mucus, est de réaction *alcaline*. Les ensemencements accusent la présence d'innombrables vibrions à l'état de pureté absolue, dans le sang, le péritoine et la rate; en moindre proportion dans le foie et dans les veines. L'estomac renferme beaucoup de B. coli et de rares vibrions; depuis le duodénum jusqu'au côlon, le contenu microbien de l'intestin est représenté par une culture mixte de B. coli et de vibrions.

Donc, dans ce cas aussi, il s'est produit une généralisation septicémique de vibrions, avec leur imposante excrétion gastro-intestinale et réveil simultané du B. coli. Cependant, dans ce dernier cas, le B. coli s'est borné au tube digestif où il s'est développé prodigieusement, sans avoir envahi la circulation du sang.

L'excrétion massive intestinale des vibrions et la précoce alcalinité du liquide gastrique appellent particulièrement l'attention. Il est évident que les vibrions, parvenus, par la circulation, au niveau du tube digestif, agissent sur les cellules gastriques pariétales en en troublant les processus métaboliques, de façon à empêcher la production d'acide, comme j'ai décrit ailleurs.

Il se vérifie, de la sorte, chez les jeunes chiens absolument la même transformation alcaline du contenu gastrique, suivie d'une culture mixte de vibrions et de B. coli, que j'ai déjà signalée chez les cobayes injectés dans le péritoine. Ce qui est surtout remarquable dans ces dernières expériences, chez les jeunes chiens, c'est la rapidité prodigieuse de l'excrétion des vibrions dans l'intestin.

En voici quelques preuves :

Expériences III et IV. — Deux petits chiens *fox-terrier*. Dans le premier (de 250 grammes) de quatre jours, et dans le deuxième (de 375 grammes), de douze jours, on injecte dans la veine une culture de vibrions, délayée dans de la solution physiologique. Aussitôt après, le rectum est lavé avec de l'eau peptonée, dont un échantillon est prélevé et mis à l'étuve. Le lendemain, ce liquide est transformé en une culture presque pure de vibrions.

L'excrétion intestinale des vibrions se vérifie, donc, presque instantanément chez les jeunes chiens.

Non moins intéressante fut l'autopsie que je pratiquai sur ces deux jeunes chiens. L'injection intraveineuse de vibrions y avait provoqué, dans les deux également, une septicémie vibrionienne à évolution rapidement mortelle. Les parois intestinales étaient pâles à l'intérieur, mais la muqueuse était tuméfiée, œdémateuse, très congestionnée, de couleur lie de vin : les follicules lymphatiques intestinaux étaient également tuméfiés et saillants. Dans les deux cas, le contenu de l'estomac était acide. Evidemment le temps avait manqué pour que la réaction alcaline s'y soit produite. Dans les deux cas, en effet, tandis que les vibrions injectés dans la veine s'étaient généralisés et multipliés si prodigieusement jusque dans le péritoine, l'estomac contenait seulement du B. coli qui, on le sait, peut se développer encore assez bien dans un milieu légèrement acide. Ces microbes, cependant, étaient devenus tellement virulents qu'ils avaient envahi, bien qu'en petit nombre, tous les organes, en se concentrant plus particulièrement dans la cavité péritonéale. Dans tout le trajet intestinal, du pylore à la valvule iléo-cæcale, la flore microbienne était représentée par une très abondante culture presque pure de vibrions.

Expérience V. — Petit chien griffon de 400 grammes, quatre jours, injecté avec une anse normale de vibrions. L'animal résiste. L'ensemencement des fèces, pratiqué aussitôt après leur émission, accuse la présence de vibrions. Sacrifié dix jours après, on ne parvient à y retrouver de vibrions ni dans les intestins, ni dans d'autres organes.

En résumé, même s'ils pénètrent par la voie de la circulation du sang, les vibrions, en se portant tout de suite après sur les parois intestinales, y provoquent l'exaltation de la virulence du

B. coli, suivie souvent de l'invasion de ce microbe dans les différents organes.

En ce qui concerne le B. coli, il se produit exactement aussi dans l'infection cholérique ce qui se produit, et que j'ai depuis longtemps signalé, dans l'infection typhoïde (1) à savoir : l'exaltation de la virulence du B. coli, comme conséquence manifeste de la lésion intestinale provoquée par l'intense et immédiate excrétion des microbes et de leurs protéides provenant de la circulation générale à travers les parois du tube digestif.

III. — Infection vibrionienne par la bouche.

Les expériences d'infection vibrionienne par la voie buccale ont été opérées sur huit chiens nouveau-nés appartenant à différentes portées.

De ces huit chiens, quatre succombèrent à l'infection, trois survécurent et le dernier fut dévoré par sa mère.

Des chiens qui ont survécu, le premier, de race bâtarde (260 grammes), de neuf jours, reçoit par la bouche deux cultures de vibrions sur gélose ; le deuxième, *fox-terrier* (220 grammes), de cinquante-huit heures, reçoit deux anses normales de vibrions, le troisième griffon (400 grammes), de trente-six heures reçoit deux cultures.

Les effets de ces abondantes administrations de vibrions furent nuls.

Je pensai alors à recourir à des sujets encore plus jeunes et plus délicats, et les résultats furent, en effet, différents.

Expérience VI. — Chien de berger de 395 grammes venant d'être mis bas depuis quinze minutes seulement. Je lui administre par la bouche une culture de vibrions délayée dans du lait. Le lendemain, ce petit chien ne présente aucun signe de maladie, son poids monte à 430 grammes, mais il meurt quarante heures après.

L'autopsie exécutée tout de suite après, accuse les signes d'une entérite d'intensité moyenne. L'estomac renferme peu de lait, de réaction légèrement acide. Tout l'intestin rougeâtre, diarrhéique, chargé de liquide séro-muqueux, avec flocons de mucus et de lambeaux épithéliaux. Le sang est noirâtre. La vésicule biliaire renferme très peu de bile de couleur rougeâtre,

(1) Etudes sur la fièvre typhoïde expérimentale. Ces *Annales*, IIe mémoire, 1894, p. 220.

transparente. La rate est normale. La vessie urinaire est complètement rétractée et vide.

Les ensemencements sur des tubes de gélose inclinés donnent les résultats suivants :

Sang	45 colonies de vibrions.
Foie.	3 — —
Bile	∞ — — et 8 colonies de colibac.
Rein	∞ —
Rate	6 — — et 12 —
Estomac	Beaucoup de colibacilles et quelques vibrions.
Intestin grêle et côlon.	∞ colonies de vibrions et de B. coli.

Bref, les vibrions administrés par la bouche avaient pénétré dans le sang et avaient déterminé une infection générale, suivie d'une considérable excrétion intestinale et d'un réveil simultané du B. coli avec invasion des organes et de la circulation générale.

Expérience VII. — Chien de berger, de la même portée que le précédent, de 430 grammes. Une heure après la naissance, on lui prélève par saignée 5 cent. cubes de sang pour l'étude du sérum et on le remet dans la couche avec son frère, sans lui faire subir d'autre opération. Il se contagionne néanmoins à la mamelle, infecté par le premier, et meurt après quarante-huit heures.

L'autopsie, pratiquée immédiatement après, accuse l'existence d'une gastro-entérite assez intense.

L'estomac renferme des matières jaune-verdâtre, de réaction alcaline. L'intestin grêle présente la muqueuse rougie et contient des mucosités jaunâtres. Le gros intestin possède un contenu chargé de flocons épithéliaux. La bile est rougeâtre et très fluide, la rate est petite, la vessie urinaire est rétractée et renferme quelques gouttes seulement d'urine trouble et légèrement albumineuse. Le sang est fluide et noirâtre.

Les ensemencements, sur des tubes de gélose incliné, donnent les résultats suivants :

Sang	Beaucoup de colonies de B. coli et de streptocoques. Dans l'eau de condensation, ainsi que dans les cultures en eau peptonée, on rencontre aussi des vibrions.
Péricarde. . .	∞ streptocoques et beaucoup de B. coli.
Péritoine . . .	Beaucoup de streptocoques.
Rate	— —
Foie.	— —
Bile.	0.
Estomac . . .	Beaucoup de B. coli et de rares vibrions.
Intestin grêle.	∞ B. coli, rares vibrions et streptocoques.
Côlon.	— — —
Urine.	Beaucoup de streptocoques.

L'interprétation de ces résultats conduit aux conclusions

suivantes : les vibrions, qui ont contaminé la bouche du petit chien par l'intermédiaire de la mamelle maternelle, ont pénétré dans le sang et y ont provoqué (surtout à cause de leur faible nombre) une légère vibrionémie, suivie d'excrétion intestinale. Celle-ci, cependant, a été suffisante pour frapper la muqueuse intestinale et exalter, à son niveau, le B. coli et les streptocoques qui s'y trouvent, et en provoquer l'envahissement de l'organisme tout entier. Cet envahissement masque la contagion primitive de nature vibrionienne.

Expériences VIII et IX. — Deux petits chiens de chasse, du poids respectif de 375 et 400 grammes, nés depuis cinq heures environ. On leur administre, à chacun, une culture de vibrions, délayée dans un peu de lait. Le lendemain, un de ces chiens semble malade et a de la diarrhée. La mère le pousse loin du nid. Il meurt pendant la nuit. Toute recherche est impossible.

L'autre chien, qu'on trouve vivant, a également de la diarrhée et gémit. Il meurt trois jours après le début de l'expérience. L'autopsie, exécutée aussitôt, accuse l'existence d'une gastro-entérite diffuse très grave. L'estomac, très dilaté, contient peu de liquide trouble, de réaction légèrement *alcaline*.

Tout le tube digestif présente la muqueuse très hyperémiée, tuméfiée, contenant de la mucosité jaune rougeâtre. Le sang du cœur est dense et noirâtre, le foie est anémique et de couleur feuille-morte, la rate est congestionnée et de couleur brune, la vessie urinaire est contractée et vide.

Les ensemencements ont donné les résultats suivants :

Sang.	0.
Foie	0.
Bile	Beaucoup de vibrions et de B. coli.
Rate.	Rares B. coli.
Reins	0.
Estomac. . . .	B. coli, B. mésentériques et microcoques.
Duodénum. . .	∞ B. coli et beaucoup de vibrions.
Jéjunum	— —
Côlon	— —

Tel est le cadre bactériologique d'un cas typique de choléra humain. Il s'est produit, chez ce petit chien aussi, l'exaltation habituelle de la virulence du B. coli et son irruption dans la circulation, qui nous est dévoilée par la localisation résiduaire dans la rate et la vésicule biliaire.

La présence des vibrions dans cette vésicule est toujours l'indice certain d'une précédente vibrionémie, ainsi que je l'ai signalé dans mes expériences sur les cobayes.

Expérience X. — Petit chien bâtard de 360 grammes, né depuis vingt-quatre heures. Je lui administre par la bouche une culture de vibrions

délayée dans quelques gouttes de lait. Les jours suivants, ce petit chien ne présente aucun signe de maladie, mais son poids, d'abord stationnaire, baisse ensuite et, en quatre jours, tombe de 305 à 208 grammes. Il meurt à ce moment, huit jours après le début de l'expérience. A l'autopsie, exécutée tout de suite après, on trouve le paquet intestinal pâle, couenneux, tout son contenu est diarrhéique, rougeâtre, nettement hématique. L'estomac renferme des mucosités sanguinolentes, de réaction légèrement alcaline. Le foie présente les signes de dégénérescence graisseuse (1). La rate est quelque peu grossie et molle. La vessie urinaire est rétractée et complètement vide.

Le tableau anatomique est donc celui d'une gastro-entérite avec une franche stéatose hépatique et anurie.

Les ensemencements ont donné les résultats suivants :

Sang	0.		
Foie.	0.		
Bile.	0.		
Rate.	Quelques bacilles et quelques microcoques.		
Estomac.	∞ B. coli.		
Jéjunum	∞	—	et quelques vibrions.
Appendice. . . .	∞	—	et beaucoup de vibrions.

En substance, nous avons eu ici le tableau typique d'un cas de choléra à évolution lente.

Absorbés par la muqueuse bucco-pharyngienne, les vibrions ont envahi le sang et se sont, tout de suite après, acheminés vers l'émonctoire habituel, c'est-à-dire vers le tube digestif, en provoquant une gastro-entérite subaiguë d'intensité moyenne. Cette gastro-entérite a alors exalté la virulence du B. coli provenant des matières fécales de la mère, et a favorisé la pullulation le long de tout le tube digestif et ensuite l'irruption dans le sang. La présence du B. coli et des microcoques dans le tissu splénique est le témoignage certain de la généralisation du processus infectieux. La mort s'est produite presque subitement, car, jusqu'à la veille, l'état de l'animal, à juger même par son poids, s'était maintenu satisfaisant. A son tour, le contenu intestinal exempt de vibrions, sauf un certain nombre trouvés au niveau de l'appendice vermiforme rudimentaire, atteste : 1° que l'infection vibrionienne s'était déjà épuisée au moment

(1) La stéatose hépatique et rénale a été signalée et décrite aussi dans le choléra de l'homme, à l'occasion de l'épidémie des Pouilles et de Naples de 1910 (J. Bandi, Le epidemie coleriche delle Puglie e di Napoli in *Rivista critica di Clinica Medica* ; *Firenze*, 1910). Cette stéatose peut se produire très rapidement, attendu que Bandi l'a encore constatée dans les cas de choléra foudroyant. Elle est parfois si intense qu'on peut la comparer à celle des empoisonnements aigus, par phosphore et arsenic, comme également à la stéatose de la fièvre jaune.

de la mort; 2° que les vibrions administrés par la bouche des petits chiens s'éliminent également par la muqueuse de l'appendice; 3° que la mort presque subite de l'animal doit être rattachée aux conséquences indirectes de l'invasion des vibrions bien plutôt qu'à leur action directe.

Pour expliquer la durée de la maladie, longue en comparaison des cas précédents, on ne saurait pas invoquer une plus forte résistance acquise par les tissus, par ceux particulièrement de la muqueuse intestinale, après vingt-quatre heures seulement de vie extra-utérine. On peut penser, au contraire, que c'est le pouvoir vibrionicide du lait maternel, dont les chiens s'alimentent quelques heures après leur naissance, qui y joue un rôle. Nous avons déjà vu au chapitre III du mémoire précédent, que le lait frais de chienne est doué d'action vibrionicide, quoique fugace. Kitasato (1), Cunningham (2), etc., ont d'ailleurs montré que le lait frais et cru est capable de tuer rapidement les vibrions du choléra. C'est peut-être pour ce motif que, selon les auteurs anciens et modernes, dans les épidémies de choléra, les enfants à la mamelle échappent en général, au choléra (3).

Et c'est précisément pour cette même raison que, chez les chiens nouveau-nés n'ayant pas encore tété, la contagion par la voie buccale est suivie d'un résultat positif, c'est-à-dire donne lieu à l'invasion vibrionienne sous la forme septicémique et à évolution rapidement mortelle.

RÉSUMÉ

Je crois pouvoir tirer, de l'ensemble de ces recherches sur les chiens nouveau-nés, les conclusions suivantes :

1° Les chiens tout nouveau-nés, lorsqu'ils n'ont pas encore tété le lait maternel, sont très sensibles à l'infection cholérique propagée par la voie buccale.

(1) Kitasato, Das verhalten der Cholerabakterien in der Milch. *Zeitsch. für Hygiene*, 1889, 5, p. 491.

(2) Cunningham, On milk as a medium or choleraic commabacilli. *Scientific Memoirs by the Med. Officiers of the Army of India.* Part. V. Calcutta, 1890, p. 1.

(3) Griesinger. *Delle malattie da infezione.* Editore Vallardi, Milano, p. 554; Thoinot. *Choléra asiatique*, Baillière, Paris, 1912, p. 156.

2° Les vibrions administrés par cette voie aux chiens nouveau-nés, ne peuvent pas traverser vivants le contenu gastrique normal, dont le degré d'acidité est très élevé.

3° Pour cette raison, comme chez les lapins nouveau-nés, les vibrions sont absorbés par la muqueuse des premières voies digestives. Une fois parvenus dans la circulation générale, ils s'acheminent vers le tube digestif, qui est leur émonctoire naturel. L'excrétion intestinale des vibrions pénétrés ou s'étant multipliés dans le sang se produit rapidement.

4° La multiplication des vibrions dans le sang et les différents organes où ils parviennent est facilitée par l'absence du pouvoir alexinique, qui n'apparaît, chez les chiens nouveau-nés, que trois ou quatre jours après la naissance. Le sérum sanguin des chiens adultes est, par contre, franchement vibrionicide.

5° Le suc entérique du chien n'est pas un milieu de culture favorable au développement des vibrions.

6° Le pouvoir d'absorption de la muqueuse intestinale normale pour le protéide du vibrion est, chez les chiens, insignifiant.

7° Lorsque seulement à la suite d'une vaccination parentérale, le sérum sanguin a atteint un haut degré de pouvoir agglutinant, celui-ci apparaît également, mais dans une très faible proportion, dans le suc intestinal.

8° L'excrétion gastro-intestinale des vibrions se vérifie, chez les chiens nouveau-nés, même si les microbes ont été injectés par voie sous-cutanée ou intraveineuse.

9° L'action que les vibrions exercent, par la circulation générale, sur l'appareil excréteur gastro-intestinal, est analogue à celle déjà observée chez les cobayes. Elle consiste en une gastro-entérite par élimination vibrionienne et toxique.

10° Pareille gastro-entérite fait disparaître l'acidité du contenu gastrique, qui n'offre plus alors, comme chez les cobayes, aucun obstacle à la vie ou au développement des vibrions et d'autres microbes encore.

11° L'infection des vibrions cholériques chez les chiens nouveau-nés, qu'elle soit provoquée par la voie sous-cutanée, par la voie buccale ou par la voie intraveineuse, provoque toujours l'exaltation de la virulence du B. coli. Ce microbe, par suite de la contagion due aux matières fécales maternelles,

s'installe très précocement dans la cavité buccale du jeune chien, d'où il se propage bientôt au tube digestif. Le B. coli, en même temps qu'il gagne de virulence, se multiplie de plus en plus abondamment dans tout le canal alimentaire et finit par se répandre dans le sang et dans les organes.

12° Ainsi que cela se passe dans le choléra de l'homme, d'autres microbes, en plus du B. coli, peuvent gagner de virulence et faire irruption dans le sang.

13° Déjà, après vingt-quatre heures seulement de la naissance des jeunes chiens, l'infection vibrionienne par la voie buccale devient assez difficile. Cela ne peut être sous la dépendance du pouvoir alexinique qui est encore absent à ce moment. Celui-ci n'apparaît que plus tard dans le sérum. La résistance du chien à la contagion buccale du choléra, qui débute dès le lendemain de sa naissance, doit donc se rattacher vraisemblablement à l'action vibrionicide du lait maternel, qui étant sucé par le chien nouveau-né, presque sans discontinuité, exerce d'une façon durable, contre les vibrions dans la cavité bucco-pharyngienne, une action détersive et défensive d'une indiscutable efficacité.

14° A partir de trente-six heures après la naissance, il n'a pas été, en effet, possible de provoquer chez les chiens nouveau-nés l'infection cholérique par la voie buccale. Ce qui explique les résultats, inconstants et contradictoires, obtenus par les différents auteurs qui m'ont précédé dans ces recherches.

DU MÉCANISME DE L'INFECTION CHOLÉRIQUE ET DE LA VACCINATION CONTRE LE CHOLÉRA PAR LA VOIE BUCCALE

par S. MASAKI (de Tokio).

I

Depuis que Wyssokowitsch (1) a constaté le pouvoir vibrionicide du sérum sanguin de cobaye, Vincenzi (2), Tizzoni et Cattani (3), Behring et Nissen (4), Pfeiffer (5) et Kolle (6) ont confirmé que les vibrions, injectés par la voie parentérale, ne se retrouvent pas dans le sang déjà quelques heures après l'injection. La cause de la disparition des vibrions réside, d'après ces auteurs, dans le pouvoir vibrionicide du sérum sanguin. Tout récemment, Sanarelli (7) a cependant montré que le sérum sanguin ne possède pas de pouvoir vibrionicide.

Kolle a affirmé que les vibrions, injectés dans la carotide, sont détruits dans le sang en quelques minutes et que, déjà quelques heures après l'injection des doses même fortes de vibrions on n'en trouve plus ni dans le sang, ni dans les organes.

Des vibrions injectés à des cobayes dans la cavité péritonéale traversent, d'après Sanarelli (7), la barrière endothéliale du péritoine, puis pénètrent dans le sang et dans les organes; mais ils n'y restent pas longtemps. L'ensemencement du sang est négatif au bout de douze heures; dans l'intestin, au contraire, les vibrions peuvent rester vivants pendant quelques jours.

(1) Wyssokowitsch. *Zeitschr. für Hygiene u. Infekt.*, 1886, **1**, p. 26.
(2) Vincenzi. *Bolletino della R. Accad. med. di Roma*, 1887, **7**, p. 438.
(3) Tizzoni et Cattani. *Beiträge zur path. Anatomie u. allgem. Pathol.*, 1887, **3**, p. 224.
(4) Behring et Nissen. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1890, **8**, p. 425, 429 et 448.
(5) Pfeiffer. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1894, **16**, p. 272.
(6) Kolle. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1894, **16**, p. 356 et 358.
(7) Sanarelli. Ces *Annales*, 1920, p. 870.

Après avoir déterminé la dose minima de vibrions qui tue le cobaye en injection intrapéritonéale nous nous sommes mis à chercher les vibrions dans différents organes, afin de nous rendre compte du mode de leur répartition dans l'organisme.

L'échantillon dont nous nous sommes servi tuait, au début de nos expériences, en inoculation intrapéritonéale, 100 grammes de cobaye à la dose de un cent-soixantième de culture sur gélose de vingt-quatre heures. Suivant la dose employée, les cobayes mouraient en six heures, le lendemain ou même plus tard. Nous avons toujours ensemencé le sang, la bile, l'urine, le liquide péritonéal et le contenu intestinal à différents niveaux du conduit digestif.

A l'autopsie, ce qui nous frappa surtout, ce fut l'aspect de l'intestin. Ce dernier, notamment dans sa partie grêle, était, en général, tellement congestionné qu'on aurait pu croire à la présence de foyers hémorragiques dans les parois. Cette congestion devenait moins marquée au fur et à mesure que l'on descendait vers le cæcum. Le contenu de l'intestin grêle était complètement liquide, rougeâtre ou verdâtre ; il était riche en mucus dans presque toute son étendue.

Le péritoine était aussi fortement congestionné ; à la surface du foie, particulièrement dans les interstices interlobaires, on constatait des amas de leucocytes.

Mais ce qui a retenu surtout notre attention, ce fut le sort des vibrions injectés, notamment leur localisation élective le long du canal intestinal. Voici ce que nous avons constaté :

Lorsque la dose de vibrions est élevée et que l'animal périt en peu de temps, le sang et la bile contiennent beaucoup de vibrions ; le contenu de l'estomac, par contre, n'en contient pas trace. Il en est de même de l'appareil rénal : l'urine est toujours stérile. La plupart des vibrions se portent vers l'appareil intestinal : c'est là où se trouve leur porte de sortie, par laquelle ils quittent l'organisme. Lorsqu'on examine l'intestin à différentes hauteurs, on constate que, dans le duodénum et dans le jéjunum, les vibrions se trouvent à l'état pur, à l'exclusion de tout autre microbe associé. Dans la portion terminale de l'intestin grêle, on peut rencontrer, en plus des vibrions, un certain nombre de *B. coli*. Au fur et à mesure que l'on descend vers le gros intestin, le nombre de *B. coli* augmente. Dans la

cavité péritonéale, on trouve des vibrions pendant les six ou huit heures qui suivent l'inoculation.

En voici quelques exemples :

Cobaye n° 77 (pèse 400 grammes); le 15 mars, à 6 heures du soir, on inocule dans le péritoine une culture sur gélose de vibrions âgés de vingt-quatre heures. Le 16 mars, au matin, ce cobaye est trouvé mort. A l'autopsie, le péritoine est fortement congestionné; à la surface du foie, on constate beaucoup d'amas leucocytaires. L'intestin est congestionné; le contenu de l'intestin grêle est rougeâtre et riche en mucus.

Ensemencements :

Péritoine : nombreuses colonies de vibrions.
Sang : nombreuses colonies de vibrions.
Estomac : stérile.
Bile : 2 colonies de vibrions.
Urine : stérile.
Duodénum : 3 colonies de vibrions.
Intestin grêle à différents niveaux : nombreuses colonies de vibrions.
Gros intestin : nombreuses colonies de vibrions et de *B. coli*.

Cobaye n° 79 (pèse 380 grammes); le 15 mars, à 6 heures du soir, on inocule dans le péritoine 1/5 de culture sur gélose. Le 16 mars au matin, le cobaye est trouvé mort. A l'autopsie : le péritoine est congestionné; à la surface du foie, on voit des amas de leucocytes; l'intestin est congestionné; le contenu de l'intestin grêle est liquide, verdâtre et muqueux.

Ensemencements :

Péritoine : stérile.
Sang : une colonie de vibrions.
Bile, urine : stériles.
Duodénum : stérile.
Intestin grêle à différents niveaux : nombreuses colonies de vibrions.
Gros intestin : nombreuses colonies de vibrions et de *B. coli*.

Cobaye n° 80 (pèse 400 grammes); le 16 mars, à 6 heures du soir, on inocule dans le péritoine 1/40 de culture sur gélose de vibrions âgés de vingt-quatre heures. Le 17 mars, à 5 heures de l'après-midi, l'animal est mort. On fait de suite l'autopsie. L'aspect est le même que chez le n° 79.

Ensemencements :

Péritoine : stérile.
Sang, bile, urine : stériles.
Intestin grêle à différents niveaux : nombreuses colonies de vibrions et 2 colonies de *B. coli*.
Gros intestin : nombreuses colonies de vibrions et de *B. coli*.

Voici quelle est la répartition des vibrions, lorsque sans attendre la mort, on sacrifie l'animal au cours de la maladie, à différents moments de l'infection. En voici deux exemples :

Cobaye n° 28 (pèse 420 grammes); le 23 mars, à 10 heures du matin, il est inoculé dans le péritoine avec 1/2 culture de vibrions vivants, âgés de vingt-quatre heures; température 38°1; à 3 heures de l'après-midi, température

36°. L'animal a des frissons; son train postérieur est paralysé. On le sacrifie.

Ensemencements :

Sang : nombreuses colonies de vibrions.

Péritoine : 2 colonies de vibrions.

Bile : 2 colonies de vibrions.

Estomac, urine : stériles.

Duodénum : quelques colonies de vibrions.

Intestin grêle en différents points : nombreuses colonies de vibrions; 1 colonie de *B. coli*.

Cæcum et gros intestin : nombreuses colonies de vibrions, avec beaucoup de colonies de *B. coli*.

Rectum : vibrions, après enrichissement des matières dans de l'eau peptonée.

Cobaye n° 30 (pèse 450 grammes); le 24 mars, à 10 heures du matin, il est inoculé dans le péritoine avec 1/50 de culture sur gélose de vibrions vivants âgés de vingt-quatre heures; température 37°9; à 3 heures de l'après-midi, température 38°2; on le sacrifie.

Ensemencements :

Sang : stérile.

Péritoine : stérile.

Bile : stérile.

Estomac, urine : stériles.

Duodénum : stérile.

Intestin grêle à différents niveaux : nombreuses colonies de vibrions à l'état pur ou presque pur.

Gros intestin : nombreuses colonies de vibrions cholériques et de *B. coli*.

Les recherches relatives à la répartition des vibrions inoculés dans le péritoine, pratiquées soit après la mort de l'animal, soit durant la vie, ont été répétées par nous plusieurs fois avec les mêmes résultats. La conclusion qui s'en dégage est celle-ci :

Les vibrions inoculés dans le péritoine arrivent immédiatement dans le sang. Pendant les dix premières heures, on en trouve aussi bien dans le péritoine que dans le sang. Pendant que les ensemencements de la bile sont positifs, on trouve des vibrions dans le contenu du duodénum. Aussitôt après leur apparition dans le sang, les vibrions commencent à affluer vers l'intestin, surtout au niveau du jéjunum, de l'iléon et du cæcum. Dix heures après l'inoculation, les ensemencements du liquide péritonéal, du sang et de la bile ne donnent plus de vibrions, tandis que ceux-ci se montrent encore abondants dans l'intestin, où ils séjournent pendant deux-trois jours.

Ajoutons que l'on trouve souvent des vibrions dans le péritoine ou dans le sang, quelque temps après la mort de l'animal, lorsque celui-ci avait reçu une dose mortelle minima (mort en douze ou vingt-quatre heures). A notre avis, la présence des vibrions dans ce cas est un fait post-mortel, car chez le cobaye que l'on sacrifie au cours de l'infection, peu de temps avant la mort, on ne trouve jamais de vibrions ni dans le sang, ni dans la cavité péritonéale.

*
* *

C'est le sort des vibrions introduits *dans le tissu sous-cutané*, qui offre un intérêt tout particulier, vu que lors des vaccinations contre le choléra, c'est cette voie qui est généralement adoptée.

H. Buchner (1) avait signalé le passage dans l'intestin des vibrions cholériques injectés sous la peau. Ce fait a été démenti par Wyssokowitsch (2). En se basant sur de nombreuses expériences chez des lapins, cet auteur a déclaré qu'il était impossible de constater le passage de vibrions dans le contenu intestinal, à la suite de l'injection sous la peau ou dans les veines.

D. D. Cuningham (3) a affirmé avoir observé chez le cobaye, à la suite d'injection de fortes doses de vibrions sous la peau, la présence de ces microbes dans l'intestin grêle. Cette observation fut dans la suite démentie par Baumgarten (4).

La question en est restée là, quant au sort des vibrions inoculés sous la peau.

Ce sont les recherches récentes de Besredka sur le mécanisme de l'infection paratyphique B et de la dysenterie, qui nous incitèrent à reprendre cette étude. Cet auteur a fait ressortir, comme on le sait, l'affinité très grande que le bacille de Shiga et les bacilles du groupe typho-paratyphique possèdent pour la paroi intestinale. Cette affinité se traduit par le fait remarquable que, quelle que soit la porte d'entrée de ces virus, alors même que cette porte est sous-cutanée, c'est-à-dire très distante de l'intestin, la porte de sortie est toujours la même,

(1) Buchner. *Archiv f. Hygiene*, 1885, **3**, p. 361 et 400.
(2) Wyssokowitsch. *loc. cit.*, p. 26.
(3) Cuningham. *Scientific Memoirs by Medical officers of the Army of India*, 1886, p. 1.
(4) Baumgarten. *Jahresbericht d. pathogenen Mikroorganismen*, 1886, **2**, p. 301.

c'est-à-dire intestinale. Il était naturel de se demander s'il n'en est pas de même pour le vibrion cholérique.

Nous avons injecté à plusieurs cobayes sous la peau du ventre des doses variables de vibrions ; puis, nous nous sommes mis à chercher les vibrions dans différents organes, soit après avoir sacrifié les animaux au cours de l'infection, soit après avoir attendu leur mort naturelle.

En voici deux exemples :

Cobaye n° 95 (pèse 390 grammes) ; le 30 mars, à 8 heures du matin, il reçoit une culture sur gélose de vingt-quatre heures de vibrions vivants dans le tissu sous-cutané; température 38°. A 7 heures du soir, il est mort. A l'autopsie : dans le tissu sous-cutané, à l'endroit de l'inoculation, on trouve un amas de leucocytes. Le liquide péritonéal est plus abondant que de coutume. L'intestin est congestionné, l'intestin grêle l'est particulièrement. A la surface du foie, beaucoup de globules blancs; la vésicule biliaire est vide; la vessie est presque vide; le contenu de l'intestin grêle est liquide, rougeâtre; le cæcum est distendu par des gaz.

A l'examen microscopique : l'abcès sous-cutané est constitué par des leucocytes contenant des vibrions.

Ensemencements :

Sérosité sous-cutanée : culture pure de vibrions.
Sang : stérile.
Bile : stérile.
Liquide péritonéal : stérile.
Intestin grêle à différents niveaux : nombreuses colonies de vibrions.
Cæcum et gros intestin : nombreuses colonies de vibrions et colonies clairsemées de *B. coli.*

Cobaye n° 5 (pèse 330 grammes) ; le 8 avril, à 9 heures du matin, on inocule sous la peau 1/5 de tube de culture ; température 38°2; à midi : 37°5. Aucun changement dans l'allure de l'animal. On le sacrifie. A l'endroit de l'inoculation, on trouve un petit amas de leucocytes. Au microscope, on trouve dans cet amas sous-cutané des vibrions libres et des leucocytes qui contiennent des vibrions en voie de dégénérescence. L'aspect des autres organes est le même que chez le cobaye n° 95.

Ensemencements :

Sérosité sous-cutanée à l'endroit de l'inoculation : beaucoup de colonies de vibrions.
Sang : stérile.
Bile : stérile.
Urine : stérile.
Liquide péritonéal : stérile.
Intestin grêle : nombreuses colonies de vibrions cholériques.
Gros intestin : colonies de vibrions et de *B. coli.*

Les constatations faites après l'inoculation sous-cutanée sont donc superposables à celles faites après l'inoculation intrapéritonéale.

Fait à noter, on ne trouve jamais de vibrions dans le sang, lorsqu'on procède à l'examen immédiatement après la mort de l'animal.

Il résulte de l'ensemble de ces expériences que le virus injecté sous la peau reste d'abord pendant deux-trois heures dans le tissu cellulaire. Les leucocytes affluent vers le point de l'inoculation et forment un abcès. Une partie des vibrions quittent le tissu sous-cutané et se dirigent vers la muqueuse intestinale ; six heures après l'inoculation, on trouve déjà des vibrions dans l'intestin.

Lorsqu'on inocule sous la peau une forte dose de vibrions, surtout peu virulents, la formation d'abcès, à l'endroit de l'inoculation, est constante; cet abcès persiste pendant quelques jours.

*
* *

Nous venons de montrer que, chez le cobaye, les vibrions introduits par la voie péritonéale ou par la voie sous-cutanée s'éliminent, en grande partie, par l'appareil intestinal.

Comment les choses se passent-elles dans le cas où l'inoculation est faite *dans le torrent circulatoire* ?

L'expérience montre que, en pareil cas, l'aspect des organes, de même que la répartition des vibrions, sont tout à fait calqués sur ceux constatés chez le cobaye inoculé sous la peau ou dans le péritoine. Nous nous contenterons de citer un seul exemple :

Lapin n° 49 (pèse 260 grammes); le 18 février, à 8 heures du matin, il reçoit dans les veines 1/2 culture sur gélose de vibrions vivants; température 38°. A 3 heures de l'après-midi : paralysie du train postérieur; température 35° ; à 6 heures du soir, il est mort.

A l'autopsie : congestion des parois intestinales, particulièrement celles de l'intestin grêle; le sang du cœur est liquide. L'intestin grêle renferme dans toute son étendue un liquide diarrhéique, visqueux; le gros intestin est congestionné; le cæcum est fortement distendu par des gaz ; la vésicule biliaire est grosse; la bile est verte. La vessie est presque vide.

Ensemencements :

Sang : 3 colonies de vibrions.
Bile : stérile.
Urine : stérile.
Estomac : stérile.
Intestin grêle à différents niveaux: nombreuses colonies de vibrions ; dans un tube seulement, une colonie de *B. coli*.
Cæcum : nombreuses colonies de vibrions et rares colonies de *B. coli*.
Gros intestin : nombreuses colonies de vibrions et de *B. coli*.

En cas d'inoculation de vibrions cholériques vivants *sous la peau*, on observe chez le lapin les mêmes altérations que celles déjà signalées chez le cobaye.

II

Les tentatives pour reproduire le choléra expérimental par ingestion de cultures ont toujours échoué, du moins, chez l'animal adulte.

R. Koch (1) supposa que c'est l'acidité du suc gastrique qui empêchait les vibrions d'arriver jusqu'à l'intestin grêle. Il neutralisa l'acidité du suc gastrique avec une solution de carbonate de soude (2 p. 100); puis, pour mieux réussir, il immobilisa l'intestin au moyen de la teinture d'opium. En procédant ainsi, il réussit, en effet, à provoquer chez le cobaye des selles diarrhéiques, du collapsus et de l'hypothermie.

Cantacuzène (2) a montré que ce prétendu choléra expérimental du cobaye n'est en réalité qu'une infection vibrionienne banale, favorisée par la narcose opiacée. Sobernheim (3) était d'avis que les cobayes, préparés suivant la technique de Koch, ne mouraient pas d'infection cholérique, attendu que le même effet peut s'obtenir par l'ingestion de vibrions tués.

Ce sont les recherches classiques de Metchnikoff (4) qui nous apprirent à réaliser le véritable choléra expérimental. Ce savant a montré que si les animaux adultes jouissent de l'immunité vis-à-vis du choléra intestinal, celle-ci est due à la présence dans le tube digestif de microbes qui s'opposent au développement des vibrions cholériques. Il jugea donc nécessaire de s'adresser à des animaux qui possèdent une flore intestinale très pauvre, notamment, à des lapins et à des cobayes nouveau-nés.

Nous avons montré plus haut que, quelle que soit la porte d'entrée des vibrions, que ceux-ci soient inoculés par voie péritonéale, sanguine ou sous-cutanée, l'infection finit toujours par être celle de la muqueuse intestinale.

(1) Koch. *Berliner klin. Woch*, 1885, p. 37.

(2) Cantacuzène. *Recherche sur le mode de destruction du vibrion cholérique dans l'organisme*, Paris, 1894, p. 115, Steinheil, éd.

(3) Sobernheim. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1893, **14**, p. 495.

(4) Metchnikoff. Ces *Annales*, 1893, p. 403; 1894, p. 529 et 589.

On pouvait se demander si, en administrant par la bouche des vibrions en très grande quantité, on ne parviendrait pas à déterminer des troubles intestinaux. Besredka (1) n'a-t-il pas constaté qu'en faisant avaler aux lapins des bacilles de Shiga, même tués, on pouvait provoquer chez eux une dysenterie mortelle?

Nous avons mis à jeun des cobayes et des lapins pendant seize à dix-huit heures; puis, le lendemain, nous leur avons fait avaler des vibrions vivants, variant de deux tubes de gélose à une demi-boîte de Roux pour cobayes, et de une demi-boîte à deux boîtes de Roux pour lapins.

Malgré l'absorption de quantités aussi massives de vibrions, aucun des animaux ainsi traités ne manifesta le moindre trouble.

*
* *

Rappelons que, en sensibilisant des lapins au moyen de la bile, Besredka (2) a réussi à vaincre la résistance naturelle de ces animaux vis-à-vis des virus paratyphique et typhique, et à déterminer chez eux une infection mortelle par voie buccale. En utilisant la bile, Besredka chercha à modifier par un artifice inoffensif la muqueuse intestinale, à créer au besoin une légère brèche pour ménager aux microbes une issue à travers la paroi intestinale. C'est ce que nous essayâmes également de réaliser chez des animaux vis-à-vis des vibrions cholériques.

De la bile stérilisée (1 h. à 100°), mélangée à de la poudre de réglisse, était administrée *per os* le soir, vers six heures. L'animal était laissé ensuite à jeun; le lendemain matin, vers dix heures, on lui redonnait de la bile; à midi, le jeûne était levé.

Nous nous sommes demandé si, au moyen de cette sensibilisation par la bile, il était possible de modifier la muqueuse intestinale de manière à la rendre perméable aux vibrions cholériques.

Nous avons pris des lapins que nous avons réparti en quatre séries :

(1) Besredka. Ces *Annales*, 1919, p. 301.
(2) Besredka. Ces *Annales*, 1919, p. 557.

Les lapins de la première série étaient *préparés par la bile*; ils ont reçu ensuite *per os* une culture sur gélose de vibrions cholériques *vivants*, en boîte de Roux.

Les lapins de la deuxième série étaient *préparés par la bile*; ils ont reçu ensuite *per os* une culture sur gélose de vibrions *tués* par la chaleur, en boîte de Roux.

Les lapins de la troisième série *n'étaient pas préparés* par la bile; ils ont reçu *per os* une culture sur gélose de vibrions *vivants*, en boîte de Roux.

Les lapins de la quatrième série *n'étaient pas préparés* par la bile; ils ont reçu *per os* une culture sur gélose de vibrions *tués* par la chaleur, en boîte de Roux.

Le tableau ci-dessous indique les taux d'agglutinines constatées au cours de l'une de ces expériences.

Lapin A, *sensibilisé* avec de la bile, a ingéré des vibrions vivants.
— B, — — — tués.
— C, *non sensibilisé* avec de la bile, a ingéré des vibrions vivants.
— D, — — — tués.

DATES	LAPIN A	LAPIN B	LAPIN C	LAPIN D
Première ingestion : 15 avril.				
22 avril	1 : 10	1 : 320	0	0
29 —	1 : 20	1 : 640	0	0
Deuxième ingestion : 30 avril.				
2 mai	0	1 : 10	0	0
5 —	1 : 20	1 : 320	0	0
7 —	1 : 50	1 : 1.280	0	0
Troisième ingestion : 8 mai.				
10 mai	0	1 : 320	0	0
13 —	0	1 : 1.280	0	0
15 —	0	1 : 5.120	0	0
22 —	0	1 : 5.120	0	0

Il résulte de ce tableau que :

1° Le pouvoir agglutinant du sérum est très différent, suivant que les animaux sont sensibilisés par la bile ou ne le sont pas. Chez les premiers, on constate un pouvoir agglutinant très

net, tandis que chez les derniers, n'ayant pas été préparés par la bile, on ne trouve pas trace d'agglutinine.

2° Chez les animaux sensibilisés avec de la bile, l'ingestion de vibrions *tués* est suivie de production particulièrement abondante d'agglutinine.

3° A la suite de l'ingestion de vibrions tués, le pouvoir agglutinant augmente progressivement avec chaque prise de vibrions. Par contre, dans le cas de vibrions vivants, le pouvoir agglutinant, déjà faible au début, disparaît au cours des ingestions ultérieures.

Ces expériences montrent que la barrière intestinale du lapin s'oppose, dans les conditions normales, au passage des vibrions ou de leurs produits à travers l'intestin ; mais que la sensibilisation au moyen de la bile modifie la muqueuse intestinale, au point d'ouvrir le passage aux produits en question.

En reprenant l'hypothèse de Besredka (1), formulée au sujet de l'infection paratyphique, nous dirons que, lors de la première et de la deuxième ingestion des vibrions vivants, une partie de ceux-ci pénètrent, à la faveur de la bile, dans l'économie, ce qui explique l'apparition d'agglutinines dans le sang. Comme, dans l'hypothèse de Besredka, la paroi intestinale se vaccine contre les vibrions, on conçoit que chaque nouvelle ingestion de virus cholérique rencontre une paroi intestinale de plus en plus insensible, donc de plus en plus imperméable aux vibrions ou à leurs produits ; de là, absence d'agglutinines et même, avec le temps, disparition d'agglutinines antérieurement formées.

Chez le cobaye, ce phénomène de sensibilisation de la paroi intestinale par la bile n'a pas pu être constaté ; peut-être cela tient-il à la toxicité de la bile pour cet animal et à l'impossibilité de l'employer à la dose convenable.

*
* *

Existe-t-il dans le sérum des lapins soumis à l'ingestion de vibrions cholériques, à côté des agglutinines, aussi des anticorps préventifs ?

(1) Besredka. Ces *Annales*, 1919, p. 882.

Pour nous en rendre compte, nous avons saigné des lapins de toutes les catégories : des sensibilisés par la bile et des non-sensibilisés, ceux qui avaient avalé des vibrions morts et ceux qui avaient avalé des vibrions vivants. Leurs sérums étaient injectés, à la dose de 3 cent. cubes, sous la peau des cobayes neufs. Le lendemain, ces cobayes avaient été éprouvés par la voie péritonéale, au moyen d'une dose mortelle de vibrions vivants (1/10 de culture sur gélose) : aucun des cobayes ainsi éprouvés n'a survécu.

Donc, le sérum de lapins sensibilisés ou non, ayant reçu, une à six semaines auparavant *per os* des vibrions tués ou vivants, ne possède pas de pouvoir préventif. Nous y reviendrons.

*
* *

On pouvait se demander si, en combinant la bile avec des doses massives de vibrions, on n'arriverait pas à obtenir une infection cholérique mortelle.

Nous avons pris une série de lapins de 1.920 à 2.000 grammes ; nous leur avons administré *per os* 10 c. c. de bile, qui est une dose inoffensive, pendant deux jours de suite; puis, nous leur avons fait avaler des vibrions cholériques vivants. Ces vibrions, injectés dans la veine, tuaient le lapin de 1.900 à 2.000 grammes, à la dose d'une demi-culture sur gélose.

13 *octobre*. — Lapin n° 74 (2.000 grammes); n° 69 (1.970 grammes); n° 76 (1.920 grammes); n° 72 (1.950 grammes).

A 6 heures du soir, on leur donne *per os* 10 cent. cubes de bile mélangée à de la poudre de réglisse et on les met à jeun.

14 *octobre*, 10 heures du matin. — On leur administre 10 cent. cubes de bile avec de la poudre de réglisse ; puis, à midi, on leur fait ingérer, à la sonde, des vibrions vivants à doses différentes : le lapin n° 74 reçoit 2 cultures ; le n° 69, 1 culture ; le n° 76, 1 culture ; le n° 72, 1/2 culture sur gélose, en boîte de Roux. Le jeûne est levé.

15 *octobre*, matin. — Les animaux pèsent : le n° 74 (1.920 grammes); le n° 69 (1.900 grammes) ; le n° 76 (1.880 grammes) ; le n° 72 (1.900 grammes). Ils mangent ; leur état général est bon.

17 *octobre*, matin. — Ils pèsent : n° 74, 1.900 grammes ; n° 69, 1.930 grammes ; n° 76, 1.850 grammes ; n° 72, 1.950 grammes. Le lapin n° 74 touche à peine à ses aliments ; il a de la diarrhée ; sa température est à 41°. Les autres lapins ne présentent rien d'anormal.

19 *octobre*, le matin. — Ils pèsent : n° 74, 1.850 grammes ; n° 69, 1.930

grammes; n° 76, 1.800 grammes. Lapin n° 74 a une diarrhée profuse; sa température est à 41°5; il ne mange pas. Lapin n° 69 souffre un peu, température 40°. Lapin n° 76 est malade; température 41°.

21 *octobre.* — Ils pèsent : n° 74, 1.830 grammes; n° 69, 1.900 grammes; n° 76, 1.800 grammes; n° 72, 1.990 grammes. Lapin n° 74 : la diarrhée est moins intense; la température est à 40°. Lapin n° 69 va bien : il mange, sa température est à 39°5. Lapin n° 76 est malade : il mange peu; température 40°.

22 *octobre.* — Les lapins pèsent : n° 74, 1.800 grammes; n° 69, 1.920 grammes; n° 76, 1.790 grammes; n° 72, 2.000 grammes. Le lapin n° 74 a des selles non diarrhéiques; sa température est redevenue normale : 38°5.

25 *octobre*, matin. — Le n° 74 est trouvé mort; il pèse 1.700 grammes.

Le n° 69 pèse 1.950 grammes; il va bien.

Le n° 76 pèse 1.780 grammes; il va bien.

L'autopsie du n° 74 : le tube digestif est presque vide; le foie est anémié; dans l'estomac, on trouve peu d'aliments; l'intestin grêle contient un peu de liquide verdâtre; dans le cæcum, on trouve des matières semi-liquides, brun jaune; dans le côlon : des matières dures.

Ensemencements :

Sang : stérile.
Bile : stérile.
Liquide péritonéal : stérile.
Urine : stérile.
Estomac : quelques colonies blanches.
Intestin grêle : quelques colonies de *B. coli.*
Gros intestin : quelques colonies de *B. coli.*

2 *décembre*, matin. — Le lapin n° 76 est trouvé mort; il pèse 1.650 grammes. Autopsie : amaigrissement général; le tube digestif est presque vide. Tous les organes sont anémiés.

Ensemencements :

Sang, liquide péritonéal, bile : stériles.
Intestin grêle : quelques colonies de *B. coli.*
Gros intestin : beaucoup de colonies de *B. coli.*
Les autres lapins ont survécu.

Ces expériences montrent que les animaux réagissent différemment suivant la dose administrée.

Pendant les trois ou quatre premiers jours qui suivent l'administration des vibrions, les animaux ne présentent rien d'anormal, sauf une diminution passagère de poids, due au jeûne. A partir du deuxième ou quatrième jour, les lapins ayant reçu deux cultures en boîte de Roux cessent de manger; ils se tiennent immobiles pendant des heures entières dans le coin de leur cage. Leur température monte à 40-41°. La diarrhée devient de plus en plus profuse. Ces symptômes ne durent cependant pas longtemps; au bout d'une semaine, la

diarrhée et l'hyperthermie cessent; ils ne mangent pas ou très peu; leur poids diminue de jour en jour. Deux à trois semaines environ après l'ingestion de vibrions, ils meurent cachectiques : leur amaigrissement se traduit par une perte de 400 à 500 grammes.

Notons que les lapins ayant reçu une dose de vibrions équivalente à une demi-boîte de Roux ne montrent rien d'anormal; ils mangent et continuent à augmenter de poids.

A la suite de l'ingestion de vibrions provenant de toute une boîte de Roux, certains lapins se cachectisent et meurent au bout d'un mois; mais, dans la plupart des cas, tout se borne à une maladie de quelques jours, après quoi les animaux se rétablissent.

Tout porte à croire, malgré l'absence de vibrions dans les organes, que cette cachexie des lapins, observée à la suite de l'ingestion de fortes doses de vibrions, est due au virus cholérique et non pas à une infection surajoutée.

*
* *

Il nous reste à examiner, à la lumière des travaux de Besredka sur la dysenterie (1) et sur les états typhoïdes (2), s'il existe des rapports entre les phénomènes produits par l'ingestion des vibrions et l'immunité anticholérique.

La simple ingestion des vibrions vivants, même à doses élevées, ne se traduit par aucun symptôme apparent (fièvre, diarrhée, inappétence, perte de poids); aussi une telle ingestion ne doit-elle pas *a priori* être vaccinante. Il résulte, en effet, de nos expériences, que les lapins ayant avalé des vibrions vivants ne résistent pas à l'inoculation d'une dose mortelle de virus dans les veines.

Comme nous l'avons signalé plus haut, les lapins auxquels on fait ingérer de la bile d'abord, puis des vibrions vivants, tantôt tombent malades après une incubation de deux à trois jours et deviennent cachectiques, tantôt se rétablissent complètement et survivent définitivement.

Ceux qui survivent possèdent-ils l'immunité?

(1) Besredka. Ces *Annales*, 1919, p. 301.
(2) Besredka. Ces *Annales*, 1919, p. 882.

Expérience :

22 *décembre.* — Lapin n° 80 pèse 2.100 grammes ; il a reçu le 15 décembre 1/2 culture sur gélose de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation avec de la bile ; il n'avait présenté aucun symptôme.

Lapin n° 66 pèse 2.050 grammes ; il a reçu le 29 octobre 1/2 culture sur gélose de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation ; il n'a montré rien d'anormal.

Lapin n° 78 pèse 2.000 grammes ; il a reçu le 29 octobre 1 culture de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation ; il a été malade pendant quelques jours ; puis il s'est rétabli.

Lapin n° 64 pèse 1.980 grammes ; il a reçu le 29 octobre 1 culture de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation ; il a été malade pendant quelques jours ; puis il s'est rétabli.

Lapin n° 79 pèse 2.050 grammes ; il a reçu le 21 et le 29 octobre, chaque fois, 1 culture de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation ; il a été malade du 24 au 26 octobre, puis il s'est rétabli. Il n'a montré aucun symptôme à la suite de la deuxième ingestion.

Lapin neuf n° 100 pèse 2.100 grammes ; témoin.

Lapin neuf n° 99 pèse 2.120 grammes ; témoin.

A 6 heures du soir, tous ces lapins reçoivent 1/3 de culture sur gélose de vibrions vivants, âgés de vingt-quatre heures, dans la veine de l'oreille.

23 *décembre*, matin. — Lapin n° 80 et lapin n° 100 sont un peu malades ; les autres vont bien.

24 *décembre*, matin. — Lapins n°s 80, 100 et 99 sont malades ; les autres vont bien. N° 80 est mort le soir.

25 *décembre.* — N° 100 est trouvé mort le matin.
N° 99 est trouvé mort le soir.
N° 66 est malade ; les autres vont bien.

26 *décembre.* — N° 66 est trouvé mort le matin.
Les autres vont bien.
Les lapins n°s 78, 64, 79 ont survécu définitivement.

Récapitulons :

a) Les deux lapins témoins (99, 100) sont morts ;

b) Les deux lapins (80, 66) qui avaient reçu *per os*, après sensibilisation, une dose de vibrions vivants insuffisante (1/2 boîte de Roux) sont morts également ;

c) Les trois lapins (78, 64, 79) qui avaient reçu *per os*, après sensibilisation, une dose double de vibrions vivants (une boîte de Roux) ont survécu.

Notons que ces trois lapins (78, 64, 79) avaient manifesté des troubles plus ou moins accusés à la suite de l'ingestion combinée de bile et de vibrions. Ils avaient, en d'autres termes, subi une légère atteinte de choléra, ce qui leur a permis de

triompher ultérieurement de l'épreuve faite par la voie veineuse. Cette épreuve fut fatale aux témoins, de même qu'aux lapins qui, lors de l'ingestion de vibrions, n'avaient présenté aucun trouble fonctionnel (inappétence, diarrhée, amaigrissement).

Ajoutons que les lapins, sensibilisés par la bile, et ayant absorbé une quantité massive (deux boîtes de Roux) de vibrions *tués*, se montrèrent dépourvus de toute immunité. Leur sérum est, comme nous l'avons vu, fortement agglutinant; cela ne les empêcha pas de succomber à l'inoculation d'épreuve, faite avec les vibrions vivants dans les veines.

Notons que chez les cobayes les choses semblent se passer autrement que chez les lapins : l'ingestion de vibrions vivants, combinée à celle de la bile, ne fut pas suivie d'immunité dans nos expériences.

*
* *

De ses recherches sur l'immunité antityphique et antidysentérique, Besredka (1) a conclu que cette immunité est de nature locale, intestinale.

Nous arrivons à la même conclusion pour ce qui concerne l'immunité anticholérique. Nous avons observé, en effet, que :

a) Les lapins, sensibilisés par la bile ou non, qui absorbent des vibrions vivants ou morts, ne fabriquent pas d'anticorps préventifs;

b) L'ingestion de bile, suivie de celle de cultures vivantes, fait apparaître des agglutinines; celles-ci, au lieu d'augmenter lors des nouvelles ingestions de vibrions, diminuent dans le sérum; puis elles finissent par en disparaître complètement;

c) L'ingestion de vibrions tués, chez les lapins sensibilisés, a pour effet de faire apparaître des agglutinines; cependant l'immunité fait chez ces animaux complètement défaut ;

d) L'immunité *per os* n'apparaît que chez les lapins sensibilisés et ayant ingéré des cultures vivantes.

Tous ces faits nous portent donc à conclure qu'il n'y a aucune relation entre l'apparition de l'immunité et la présence

(1) Besredka. Ces *Annales*, 1919, p. 301 et 882.

d'anticorps dans le sérum. L'immunité que l'on observe chez les animaux, à la suite d'une légère atteinte intestinale, doit être de nature locale.

CONCLUSIONS.

1° Les vibrions cholériques, inoculés dans les veines, dans le péritoine ou même sous la peau, se retrouvent en grande partie dans l'appareil intestinal.

2° Le lapin et le cobaye sont complètement réfractaires à l'ingestion de n'importe quelle dose de vibrions cholériques vivants.

3° La bile donnée *per os* modifie la paroi intestinale du lapin, facilite l'accès de l'endotoxine cholérique et le passage de celle-ci à travers l'intestin dans l'économie ; de là, apparition d'agglutinine chez les animaux ayant ingéré des vibrions vivants ou tués, après sensibilisation par la bile.

4° L'ingestion des vibrions vivants ou tués n'engendre pas d'anticorps préventifs, pas plus chez le lapin sensibilisé que chez le lapin normal, non sensibilisé.

5° Seul le lapin, sensibilisé par la bile, réagit à l'ingestion de vibrions vivants : des doses très élevées de virus (deux cultures sur gélose en boîte de Roux) font périr le lapin en une à deux semaines; des doses moyennes de virus (une culture) rendent l'animal malade pendant quelques jours; enfin, des doses inférieures à une demi-boîte de Roux ne donnent lieu à aucun trouble.

6° Seul l'animal sensibilisé par la bile, ayant présenté des troubles à la suite de l'ingestion de vibrions vivants, devient vacciné contre l'inoculation d'une dose sûrement mortelle de vibrions vivants dans les veines.

7° L'immunité ainsi acquise est, selon toute probabilité, de nature locale, intestinale.

(Laboratoire du professeur Besredka.)

SUR
LA STRUCTURE ET LE MODE DE DÉVELOPPEMENT DU BACILLE TUBERCULEUX

par Auguste KIRCHENSTEINS,
Chef du Service de Microbiologie de l'Université de Riga (Lettonie).

La structure des microbes et le mode de leur développement ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux. Ce sont en particulier les belles recherches de Guilliermond qui ont largement contribué au développement de nos connaissances à ce sujet. Cependant les travaux du savant français, on le sait, ont porté principalement sur la morphologie de la cellule de levure. L'étude de la morphologie des bactéries a été quelque peu négligée jusqu'à présent, et les résultats obtenus sont encore très controversés.

En présence de ce fait et en raison de l'importance du problème, j'ai cru utile d'entreprendre des recherches systématiques sur la cytologie de divers groupes de schizomycètes. Je suis parvenu à établir, par des méthodes appropriées, que toutes les bactéries possèdent un noyau ou des corpuscules équivalents qui participent à la division de la bactérie. On peut démontrer, par ces méthodes, que la division des bactéries se fait par une *amitose* compliquée, étant donné que les corpuscules nucléaires sont toujours liés par des *filaments*. Chez les bactéries sporogènes seules, on observe, avant la formation de la spore, une véritable *mitose*, comme l'a déjà observé Guilliermond, chez la levure.

Ces recherches feront l'objet d'une publication prochaine ; dans les lignes qui suivent je résume mes observations concernant le bacille tuberculeux.

Dans un travail antérieur (1), j'ai déjà pu montrer que la

(1) *Centralblatt f. Bakt.*, I. Abt. **66**, fasc. 1, p. 143.

cellule des bacilles tuberculeux renferme des fragments qui se distinguent nettement du plasma et que ces fragments se présentent sous forme de granulations. Ces observations concordent avec celles de Spengler (1) et de Kronberger (2). Comme on le voit dans la figure 1, ces granulations sont situées sur les bords du bacille, ainsi que dans le plasma lui-même. Dans certaines conditions, ces granulations se débarrassent du plasma et peuvent alors subsister à l'état vivant (« granulations métachromatiques » de Babès et « granules » de Much); on parle alors de « granulations libres ».

La figure 2 montre des granulations de ce genre, soit ramassées en amas de dimensions variables, soit à l'état isolé. La plupart des auteurs qui se sont occupés de la question considèrent ces corps cellulaires comme une partie intégrante du bacille ; ces vues s'accordent avec celles exprimées, il y a déjà longtemps, par Babès (3). Cependant, pour A. Meyer (4) et ses élèves, ces granulations ne constituent que des matières de réserve, des corps gras, etc. Ce sont les « grains de volutine », selon la terminologie de ce dernier auteur.

Les avis restent encore partagés pour ce qui concerne la signification biologique de ces granulations. D'après Babès, Koch, Nocard et Roux, Metchnikoff, entre autres, ces granulations joueraient le rôle de spores ou de formations analogues. Nous étions nous-même partisan de cette hypothèse qui est adoptée par mon maître Spengler, ainsi que par Kronberger. Cependant mes recherches ultérieures sur la morphologie des bactéries en général, et tout particulièrement mes recherches sur le bacille tuberculeux, m'ont amené à une conclusion différente.

Voici d'abord la méthode de coloration que j'ai employée dans mes recherches.

1° On mélange bien un fragment de crachat avec une goutte d'une solution de ferrocyanure de potassium à 2 p. 100 ; on étale avec soin entre deux lamelles pour former une couche extrêmement mince et bien homogène.

(1) Spengler. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1907, n° 9.
(2) Kronberger. *Beiträge z. Klinik der Tuberkulose*, **16**, p. 42.
(3) Babès. Les Bactéries, Paris, 1890, 3e édition. *Zeitschr. f. Hygiene*, **20**, 1895.
(4) A. Meyer. *Die Zelle der Bakterien.*

2° On laisse bien dessécher à l'air et on lave à l'eau pour se débarrasser du ferrocyanure.

3° On colore à la fuchsine phéniquée jusqu'à l'ébullition du colorant (on répète cette opération plusieurs fois), on lave bien.

4° On différencie et l'on décolore avec une solution alcoolique d'iode dans l'iodure de potassium (2,5 à 3 grammes d'iode sublimé, 1 gr. 25 à 1,5 d'iodure de potassium dans 100 cent. cubes d'alcool à 80 p. 100).

5° On traite par une solution aqueuse d'acide picrique (1 partie d'une solution saturée dans 20 parties d'eau) pendant quelques minutes.

6° On traite de nouveau avec la solution d'iode pendant une à deux secondes, et on lave.

7° Nouveau traitement avec la solution diluée d'acide picrique pendant deux à trois secondes.

8° On lave bien, on laisse dessécher et l'on observe au microscope.

Dans une autre méthode, j'emploie l'acide chromique et l'hématoxyline. Voici comment on opère d'après cette méthode :

1° La préparation est traitée comme dans la première méthode.

2° On traite avec une solution d'acide chromique à 5 p. 100 pendant trente à quarante secondes, on lave bien.

3° On colore avec une solution d'hématoxyline (Delafield) en chauffant la préparation jusqu'à l'ébullition ; on lave.

4° On colore avec la fuchsine phéniquée et l'on différencie comme dans la première méthode.

Ce sont les bacilles du crachat qui se prêtent le mieux à ces études morphologiques ; les bacilles jeunes donnent les meilleurs résultats. Les bacilles vieillis et décomposés montrent des granulations qu'on connaît et qu'on voit sur la figure 3. Les cultures pures se prêtent moins bien à ce genre d'études ; seules, les bactéries jeunes peuvent être employées.

Traitées par les méthodes qui viennent d'être indiquées, les bacilles tuberculeux se présentent sous une forme tout autre que ceux colorés par les anciennes méthodes indiquées par Spengler, par Kirchensteins, par Much et par d'autres auteurs.

1

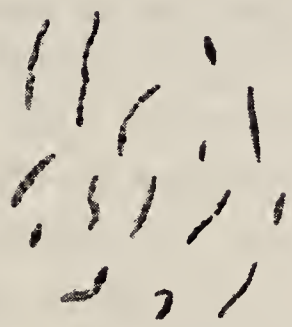
4

a

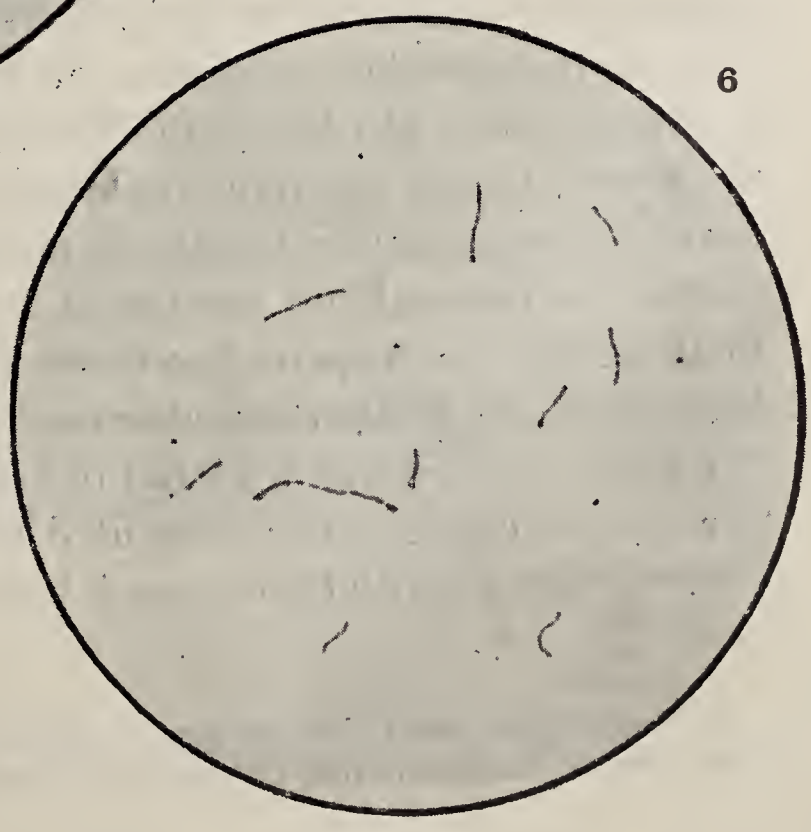
b

2

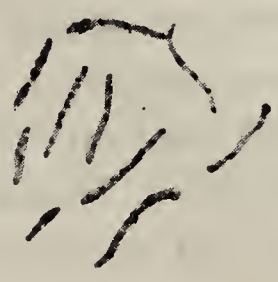
5



6



3



Les bacilles apparaissent sous la forme de bâtonnets ténus et fusiformes qui, outre les granulations polaires déjà signalées, renferment encore des corpuscules situés sur les bords opposés. Dans les préparations bien réussies, on observe que ces corpuscules sont liés ensemble par des filaments fins (fig. 4 et 5). On peut admettre que les corpuscules qu'on voit dans les préparations, colorées par les méthodes anciennes et qui remplissent toute la cavité du corps bacillaire, se sont formés par la réunion des granulations séparées et situées sur les bords du bacille. Le mode de traitement que nous indiquons a pour résultat d'empêcher précisément cette réunion ou de séparer les granulations déjà formées. Chez des bacilles vieillis ou en train de se décomposer, on distingue nettement, par les méthodes indiquées, des corpuscules séparés dans les corps bacillaires atrophiés (1).

Quel est le rôle de ces corpuscules? Sans doute, il s'agit ici de *noyaux* du bacille tuberculeux ou de corpuscules nucléaires analogues. Nous sommes arrivé à cette conclusion par nos études sur la structure d'autres bactéries, et nos observations sur la division du bacille tuberculeux nous ont confirmé dans cette opinion. On voit, notamment, lorsqu'on poursuit la multiplication de ce bacille, qu'avant la division, un petit noyau apparaît au bord de la paroi cellulaire; un filament fin conduit de ce noyau vers l'autre noyau qui apparaît ensuite. Tout d'abord, c'est le premier noyau qui se divise en même temps que le filament, ce qui a pour résultat l'apparition d'une sorte de triangle dans le plasma du bacille. Le deuxième noyau se divise alors à son tour, et enfin a lieu la division du bâtonnet lui-même. Je suis parvenu quelquefois à observer des bâtonnets courts et jeunes qui renferment à un bout deux noyaux (fig. 4, *b*). Ceux-ci se rassemblent ensuite et forment les noyaux polaires. Le même processus peut être observé très souvent chez d'autres bacilles et, en particulier, chez les bactéries sporogènes.

Peut-on considérer les granulations qu'on met en évidence par les méthodes qui viennent d'être indiquées, comme des spores? Ces granulations, aussi bien celles qui se trouvent à

(1) Les formes incurvées se sont montrées comme étant constituées par 2 ou 3 individus bacillaires pas encore détachés de la cellule mère.

l'état libre que celles qui restent incluses dans le corps bacillaire (1), peuvent donner naissance, il est vrai, à la formation de nouveaux bâtonnets (2), et c'est cette circonstance, très probablement, qui a conduit certains auteurs à les considérer comme des spores ou des formes cellulaires analogues. Nos observations ne justifient nullement une telle conception. Encore moins justifiée nous paraît l'opinion suivant laquelle il s'agirait là de produits de décomposition ou de dégénérescence du bacille tuberculeux, comme nous le ferons voir dans une publication prochaine.

(1) On ne sait pas encore si ces granulations séparées du corps bacillaire ou « granulations nues » portent encore des résidus plasmatiques. Dans tous les cas, ces granulations se distinguent chimiquement des granulations qui restent incluses dans le corps bacillaire : les premiers notamment prennent une coloration plus foncée, lorsqu'on les colore par la méthode à l'acide picrique indiquée par Spengler.

(2) J'ai poursuivi moi-même les transformations de ces granulations en bâtonnets dans l'organisme tuberculeux (*Beiträge zur Klinik der Tuberkulose*, **30**, 1914, p. 33).

LÉGENDES DES FIGURES

Fig. 1. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat. Coloration d'après la méthode de Kirchensteins (à l'iode et l'osmium).

Fig. 2. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat. Granulations en amas et à l'état isolé ; coloration d'après la méthode de C. Spengler (à l'acide picrique).

Fig. 3. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat. Formes vieillies, partiellement décomposées.

Fig. 4. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat : *a*) formes jeunes et granulations se transformant en bâtonnets ; *b*) la division d'un bacille tuberculeux.

Fig. 5. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat. Formes vieillies.

Fig. 6. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat, formes allongées partiellement décomposées ; quelques granulations isolées ; coloration d'après la méthode de Spengler (à l'acide picrique).

SUR QUELQUES MICROBES THERMOPHILES STRICTEMENT ANAÉROBIES

par R. VEILLON.

Si l'on consulte les travaux concernant l'étude des microbes thermophiles (1), on remarque que les nombreux microbes qui ont fait l'objet de ces travaux appartiennent, soit à des espèces *aérobies strictes*, soit à des espèces *facultatives*; il n'en est pas décrits qui soient *strictement anaérobies*, c'est-à-dire ne pouvant exister et se développer qu'en l'absence totale de toute trace d'oxygène.

Dans la bibliographie très détaillée que donne sur la question M. L. Nègre, Oprescu est cité comme ayant étudié des espèces obligatoirement anaérobies. A ce sujet, M. Nègre dit ceci (2) :

« Il est intéressant de noter les relations qui existent entre la vie aérobie et la thermobiose. Sans l'ériger en loi générale, on peut dire que, dans un très grand nombre de cas, les bactéries thermophiles obligatoires sont aérobies obligatoires, les bactéries thermophiles facultatives sont aérobies facultatives. Toutes les espèces décrites jusqu'à présent peuvent vivre en vie aérobie. Oprescu seul a décrit trois espèces qui sont *obligatoirement anaérobies* (3). »

En nous reportant aux travaux d'Oprescu, nous avons vu que ce savant décrit cinq espèces de thermophiles qu'il cultivait à 55° et sur l'aérobiose desquels il fait, à la fin de son étude, la remarque suivante : « L'affirmation de L. Rabinowitch, que les thermophiles seraient facultativement anaérobies est incorrecte ; nous avons observé des espèces *qui ne se développent pas du tout*

(1) L. Nègre, Les microbes thermophiles. *Bull. Inst. Pasteur*, **10**, n° 9, 15 mai 1912, p. 385, et n° 10, 30 mai 1912, p. 433.

(2) *Bull. Inst. Pasteur*, **10**, n° 9, 15 mai 1912, p. 390, les 7 dernières lignes et p. 391, les 2 premières lignes.

(3) *Arch. f. Hyg.*, **33**, p. 164, 1898. — *Hygien. Rundschau*, **8**, p. 107, 1898.

dans une atmosphère soigneusement débarrassée d'oxygène. On ne peut pas nier l'influence de l'oxygène sur la sporulation du bac thermophile étudié au début. » L'auteur indique ensuite dans une série de tableaux la façon dont se comporte en présence d'hydrogène (Wasserstoff) — ce qui revient à dire : en l'absence d'oxygène — chacun des bacilles qu'il a étudiés (1). Ces caractères d'aérobiose sont résumés dans le tableau suivant :

Croissance sous l'hydrogène.

P. 173, bac. nº 1. *Bacillus thermophilus liquefaciens* **aerophilus.**	Croissance sans formation de spores. Et dans le texte, nous lisons (p. 168) : Est capable de se développer sous l'hydrogène, mais *beaucoup plus lentement* et *pas aussi abondamment* qu'en présence d'oxygène.
P. 174, bac. nº 2. *Bacillus thermophilus aerobius.*	Aucune croissance.
P. 174, bac. nº 3. — *aquatilis.*	Aucune croissance.
P. 176, bac. nº 4. — *reducens.*	Aucune croissance sur la gélose glucosée.
p. 177, bac. nº 5. — *liquefaciens tyrogenus.*	Croît *aussi* sous l'hydrogène ; la formation des spores n'est pas influencée.

L'examen de ce tableau amène à conclure que les bacilles 2, 3, 4 sont des *aérobies stricts*, et les bacilles 1 et 5 des *facultatifs*. D'ailleurs, la méthode d'isolement qu'employait Oprescu lui aurait difficilement permis d'isoler des anaérobies stricts. Voici ce qu'il dit à ce propos (p. 166) :

« Pour l'isolement des espèces particulières, nous avons suivi une méthode qui est très employée dans notre Institut d'hygiène. Il s'agit d'obtenir d'abord un enrichissement des germes. Dans ce but nous portions le matériel d'ensemencement dans un tube de bouillon qui était placé vingt-quatre heures dans une étuve réglée à 55°. Puis les cultures étaient versées à diverses dilutions dans des boîtes de Petri, et l'isolement était continué par des ensemencements répétés sur de la gélose inclinée à 2 p. 100. »

(1) Studien über thermophile Bacterien, von Dr. V. Oprescu aus Bukarest (aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin). *Archiv für Hyg.*, **33**, p. 164, 1898.

C'est bien là un procédé classique d'isolement des aérobies ou des facultatifs, et non des anaérobies.

En résumé, de tout ce qui précède, il résulte que la question de l'existence des microbes *thermophiles anaérobies stricts* nous a paru être restée entière ou seulement effleurée. C'est pourquoi nous avons voulu voir s'il était possible d'en isoler et étudier quelques espèces en employant les procédés modernes d'isolement et de culture des anaérobies stricts.

TECHNIQUE EMPLOYÉE

Isolement. — Pour isoler les microbes qui nous intéressaient nous avons employé la technique suivante, seule d'un emploi pratique pour l'isolement et la culture des anaérobies. Elle repose sur le principe des cultures en couche profonde dans un milieu solide débarrassé d'oxygène par l'action permanente d'un corps réducteur qui lui est incorporé.

Pour faire l'isolement, nous faisions fondre au bain-marie à 100°, pendant dix à quinze minutes, une dizaine de tubes de gélose glucosée en couche profonde, que nous placions ensuite dans de l'eau à 38°, ce qui permet au milieu de rester en surfusion, donc encore fluide pendant toute la durée de l'ensemencement. Puis, à l'aide d'une pipette flambée à longue effilure, nous portions dans un premier tube un peu du matériel à ensemencer (dans le cas particulier ce fut soit des fragments de fumier, soit quelques gouttes de purin), que nous délayions le plus parfaitement possible par agitation prolongée dans toute la longueur du tube, de façon à faciliter la dissémination des germes; et sans la recharger, toujours en l'agitant, mais moins longtemps, nous transportions successivement la même pipette dans les autres tubes. Ceux-ci étaient alors plongés dans l'eau froide pour solidifier rapidement la gélose. Cherchant à isoler des espèces thermophiles, nous placions les tubes dans l'eau d'un bain-marie (1) dont nous fixâmes la température d'abord à 50° et par la suite élevâmes jusqu'à 55° et 58°.

(1) Le bain-marie est bien préférable à l'étuve à air chaud quand il s'agit d'obtenir une température élevée et constante.

Dans ces conditions ne pouvaient *subsister* que des microbes ou des formes de résistance (spores) de microbes qui, tout en ne se développant pas à 50°, pouvaient néanmoins résister plus ou moins longtemps à cette température et rester susceptibles de reprendre leur développement normal quand on les replacerait à leur température optimum. Ne pouvaient se *développer*, en donnant naissance à des colonies visibles à l'œil nu, que des microbes nettement *thermophiles*, ou tout au moins *thermotolérants*.

Culture et conservation des espèces. — Pour entretenir ces espèces nous les repiquions en gélose glucosée profonde et nous avons toujours fait deux séries parallèles, une à 55° et l'autre à 37°.

Culture en milieux liquides. — Dans le cas de petites quantités de liquide, 15 à 20 cent. cubes pour lesquelles le tube à essai est suffisant, nous avons employé le dispositif indiqué par Roux. Pour des quantités plus importantes, 250 à 300 cent. cubes, nous utilisions l'appareil très pratique imaginé par M. Mazé et qui consiste en un matras de verre d'un litre de capacité environ, à l'épreuve de l'autoclave et de la pression, terminé par un long col dont l'orifice est muni d'une fermeture sous le mercure absolument étanche et qui constitue l'originalité du système. Grâce à ce dispositif, on peut prélever sans contamination du milieu, sans arrêter la culture et à n'importe quel moment, les gaz que l'on veut analyser. Pour les tubes comme pour les matras les mêmes manipulations étaient nécessaires, c'est-à-dire : ensemencement, ébullition dans le vide, rinçages au gaz d'éclairage et fermeture en scellant sur le vide.

Culture en gélatine. — Pour observer l'action liquéfiante sur la gélatine, on utilisait des tubes de gélatine glucosée que l'on ensemençait largement après fusion et que l'on faisait prendre par refroidissement. A la surface de la gélatine solidifiée on coulait de la gélose glucosée sur 2 à 3 centimètres d'épaisseur de manière à former, après solidification, un bouchon protégeant la gélatine de l'action de l'oxygène de l'air, et l'on versait sur ce bouchon de gélose un peu d'huile d'olive

stérile pour éviter la dessiccation. Les tubes étaient placés à la température nécessaire, et après quelque temps on regardait si la gélatine faisait prise comme au début quand on la refroidissait. Si la gélatine restait liquide, c'est que le microbe avait sur elle un pouvoir liquéfiant.

RÉSULTATS OBTENUS

Nous avons fait trois isolements à 50°, en gélose glucosée profonde et en suivant la technique précédemment décrite. Comme matériel d'ensemencement, nous avons pris, dans un cas du purin (1) et, dans deux autres, du fumier de ferme (2).

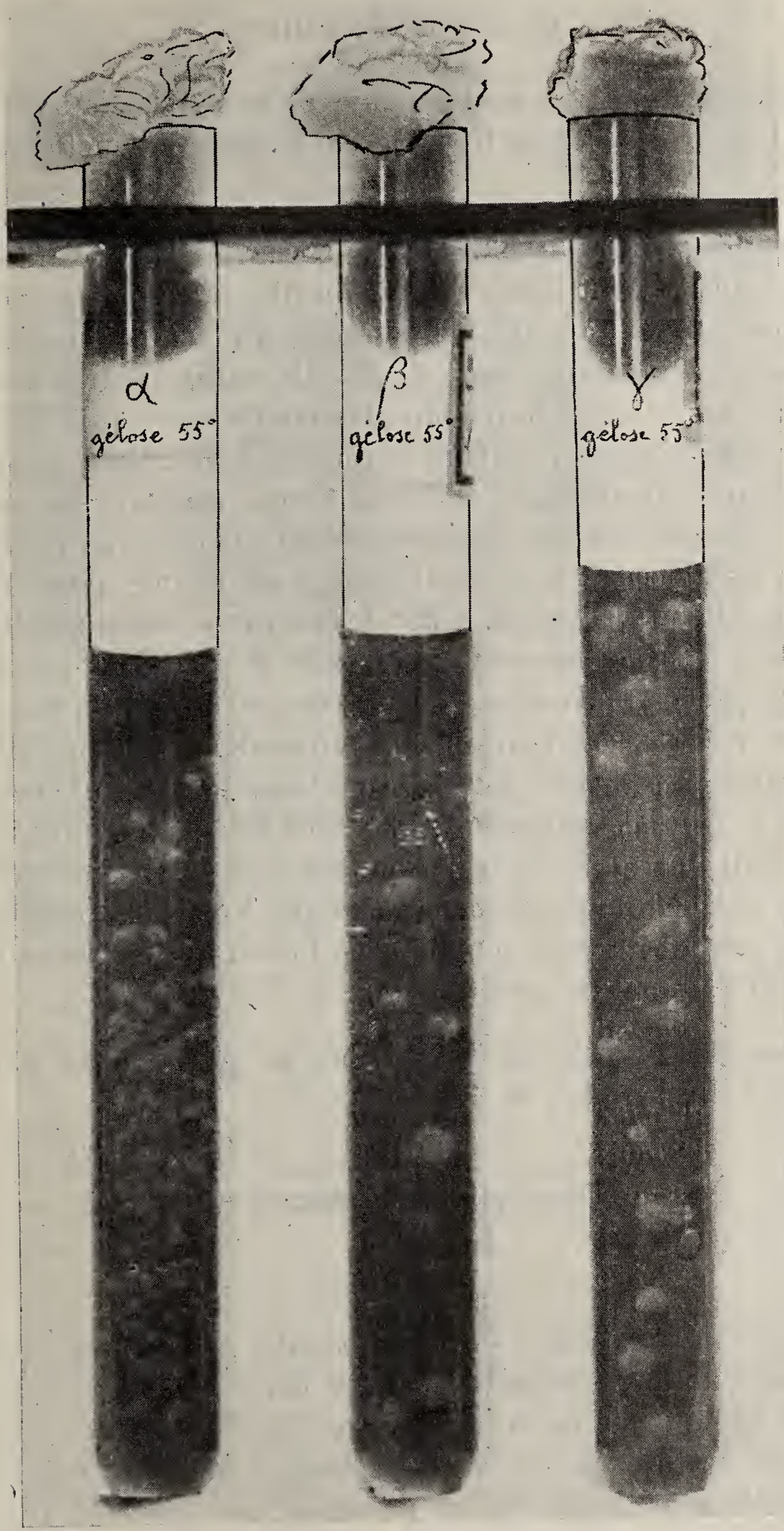
Après quarante-huit heures à 50°, deux colonies apparurent dans la zone *anaérobie* des tubes ensemencés avec le purin : l'une était une colonie nuageuse produite par un bacille anaérobie qui avait donc résisté et pu se développer pendant un certain temps, mais qui périt sous l'action prolongée de la chaleur, car repiqué dans un tube profond neuf, placé à 50°, il ne put s'y développer de nouveau ; l'autre colonie était petite, ronde et produite par un autre bacille anaérobie que l'action prolongée de la chaleur n'incommoda pas, car repiqué dans un tube neuf placé à 50° il s'y développa à nouveau.

Dans un des tubes ensemencés avec du fumier apparurent, après quarante-huit heures environ, à 50° et toujours dans la zone *anaérobie*, deux colonies rondes, une grosse et une petite, produites par des bacilles différents. Chacune de ces colonies repiquée dans des tubes neufs placés à 50° continua à croître à cette température.

Ces trois bacilles vivant à 50° n'étaient pas des facultatifs, car ils *ne se développèrent jamais* dans la zone supérieure aérée de la gélose qui dissout l'oxygène de l'air sur une épaisseur d'environ 1 à 2 centimètres. D'ailleurs ils ne poussèrent jamais sur aucun autre milieu aéré.

Nous avions donc isolé trois espèces différentes de microbes *anaérobies stricts et thermophiles* que nous désignerons par les lettres α, β, γ.

(1) Provenant d'une région de l'Est de la France.
(2) Provenant d'une région du Poitou.



Thermophiles anaérobies.
Culture de vingt-quatre heures en gélose profonde à 55°.

Conditions de culture.

Aérobiose. — α, β, γ sont des anaérobies stricts, la façon dont ils ont été isolés et dont ils cultivent le prouvant nettement.

Action de la température. — A la température ordinaire du laboratoire qui variait entre 18, 20 et 22°, α, β, γ ont une croissance extrêmement lente, presque nulle, même après deux et trois mois. C'est à cette température que nous laissions les souches pour les conserver. A 37°, ils cultivent très bien en donnant des colonies beaucoup plus nombreuses qu'à 55°, mais moins volumineuses. Suivant la qualité de la gélose employée, les colonies apparaissent après un temps variable, souvent en moins de douze heures et habituellement en vingt-quatre heures. A 50°, ils croissent également bien, c'est à cette température que nous les avons isolés. A 55°, les cultures sont aussi bonnes qu'à 50°. A cette température de 55°, et quand la gélose est bien préparée et favorable, α, β, γ croissent très vite ; plusieurs fois les colonies atteignirent des dimensions volumineuses et définitives en moins de douze heures ; habituellement, avec une gélose de qualité moyenne il leur faut de vingt-quatre à quarante-huit heures. A 55° les colonies sont toujours plus volumineuses qu'à 37°, probablement parce que, à cette température, la gélose est plus près de son point de fusion qu'à 37° et se laisse ainsi plus facilement pénétrer.

Température mortelle. — Ils ne se développent plus et meurent aux environs de 58°.

Description des microbes.

Thermo α.

Aspect microscopique. — Gros bacille, plutôt très allongé, à formes nettes, extrémités carrées dans les cultures à 37° ; formes quelquefois incurvées, souvent grêles et très allongées dans les cultures à 55°. A cette température les extrémités du bacille sont peu nettes et prennent un aspect pointu. Les bacilles de l'espèce α se groupent rarement, et quand cela se

Expérience :

22 *décembre.* — Lapin n° 80 pèse 2.100 grammes ; il a reçu le 15 décembre 1/2 culture sur gélose de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation avec de la bile ; il n'avait présenté aucun symptôme.

Lapin n° 66 pèse 2.050 grammes ; il a reçu le 29 octobre 1/2 culture sur gélose de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation ; il n'a montré rien d'anormal.

Lapin n° 78 pèse 2.000 grammes ; il a reçu le 29 octobre 1 culture de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation ; il a été malade pendant quelques jours ; puis il s'est rétabli.

Lapin n° 64 pèse 1.980 grammes ; il a reçu le 29 octobre 1 culture de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation ; il a été malade pendant quelques jours ; puis il s'est rétabli.

Lapin n° 79 pèse 2.050 grammes ; il a reçu le 21 et le 29 octobre, chaque fois, 1 culture de vibrions vivants, en boîte de Roux, après sensibilisation ; il a été malade du 24 au 26 octobre, puis il s'est rétabli. Il n'a montré aucun symptôme à la suite de la deuxième ingestion.

Lapin neuf n° 100 pèse 2.100 grammes ; témoin.

Lapin neuf n° 99 pèse 2.120 grammes ; témoin.

A 6 heures du soir, tous ces lapins reçoivent 1/3 de culture sur gélose de vibrions vivants, âgés de vingt-quatre heures, dans la veine de l'oreille.

23 *décembre*, matin. — Lapin n° 80 et lapin n° 100 sont un peu malades ; les autres vont bien.

24 *décembre*, matin. — Lapins n°s 80, 100 et 99 sont malades ; les autres vont bien. N° 80 est mort le soir.

25 *décembre.* — N° 100 est trouvé mort le matin.
N° 99 est trouvé mort le soir.
N° 66 est malade ; les autres vont bien.

26 *décembre.* — N° 66 est trouvé mort le matin.
Les autres vont bien.
Les lapins n°s 78, 64, 79 ont survécu définitivement.

Récapitulons :

a) Les deux lapins témoins (99, 100) sont morts ;

b) Les deux lapins (80, 66) qui avaient reçu *per os*, après sensibilisation, une dose de vibrions vivants insuffisante (1/2 boîte de Roux) sont morts également ;

c) Les trois lapins (78, 64, 79) qui avaient reçu *per os*, après sensibilisation, une dose double de vibrions vivants (une boîte de Roux) ont survécu.

Notons que ces trois lapins (78, 64, 79) avaient manifesté des troubles plus ou moins accusés à la suite de l'ingestion combinée de bile et de vibrions. Ils avaient, en d'autres termes, subi une légère atteinte de choléra, ce qui leur a permis de

triompher ultérieurement de l'épreuve faite par la voie veineuse. Cette épreuve fut fatale aux témoins, de même qu'aux lapins qui, lors de l'ingestion de vibrions, n'avaient présenté aucun trouble fonctionnel (inappétence, diarrhée, amaigrissement).

Ajoutons que les lapins, sensibilisés par la bile, et ayant absorbé une quantité massive (deux boîtes de Roux) de vibrions *tués*, se montrèrent dépourvus de toute immunité. Leur sérum est, comme nous l'avons vu, fortement agglutinant; cela ne les empêcha pas de succomber à l'inoculation d'épreuve, faite avec les vibrions vivants dans les veines.

Notons que chez les cobayes les choses semblent se passer autrement que chez les lapins : l'ingestion de vibrions vivants, combinée à celle de la bile, ne fut pas suivie d'immunité dans nos expériences.

*
* *

De ses recherches sur l'immunité antityphique et antidysentérique, Besredka (1) a conclu que cette immunité est de nature locale, intestinale.

Nous arrivons à la même conclusion pour ce qui concerne l'immunité anticholérique. Nous avons observé, en effet, que :

a) Les lapins, sensibilisés par la bile ou non, qui absorbent des vibrions vivants ou morts, ne fabriquent pas d'anticorps préventifs;

b) L'ingestion de bile, suivie de celle de cultures vivantes, fait apparaître des agglutinines; celles-ci, au lieu d'augmenter lors des nouvelles ingestions de vibrions, diminuent dans le sérum; puis elles finissent par en disparaître complètement;

c) L'ingestion de vibrions tués, chez les lapins sensibilisés, a pour effet de faire apparaître des agglutinines; cependant l'immunité fait chez ces animaux complètement défaut ;

d) L'immunité *per os* n'apparaît que chez les lapins sensibilisés et ayant ingéré des cultures vivantes.

Tous ces faits nous portent donc à conclure qu'il n'y a aucune relation entre l'apparition de l'immunité et la présence

(1) Besredka. Ces *Annales*, 1919, p. 301 et 882.

d'anticorps dans le sérum. L'immunité que l'on observe chez les animaux, à la suite d'une légère atteinte intestinale, doit être de nature locale.

CONCLUSIONS.

1° Les vibrions cholériques, inoculés dans les veines, dans le péritoine ou même sous la peau, se retrouvent en grande partie dans l'appareil intestinal.

2° Le lapin et le cobaye sont complètement réfractaires à l'ingestion de n'importe quelle dose de vibrions cholériques vivants.

3° La bile donnée *per os* modifie la paroi intestinale du lapin, facilite l'accès de l'endotoxine cholérique et le passage de celle-ci à travers l'intestin dans l'économie ; de là, apparition d'agglutinine chez les animaux ayant ingéré des vibrions vivants ou tués, après sensibilisation par la bile.

4° L'ingestion des vibrions vivants ou tués n'engendre pas d'anticorps préventifs, pas plus chez le lapin sensibilisé que chez le lapin normal, non sensibilisé.

5° Seul le lapin, sensibilisé par la bile, réagit à l'ingestion de vibrions vivants : des doses très élevées de virus (deux cultures sur gélose en boîte de Roux) font périr le lapin en une à deux semaines; des doses moyennes de virus (une culture) rendent l'animal malade pendant quelques jours; enfin, des doses inférieures à une demi-boîte de Roux ne donnent lieu à aucun trouble.

6° Seul l'animal sensibilisé par la bile, ayant présenté des troubles à la suite de l'ingestion de vibrions vivants, devient vacciné contre l'inoculation d'une dose sûrement mortelle de vibrions vivants dans les veines.

7° L'immunité ainsi acquise est, selon toute probabilité, de nature locale, intestinale.

(Laboratoire du professeur Besredka.)

SUR
LA STRUCTURE ET LE MODE DE DÉVELOPPEMENT DU BACILLE TUBERCULEUX

par Auguste KIRCHENSTEINS,
Chef du Service de Microbiologie de l'Université de Riga (Lettonie).

La structure des microbes et le mode de leur développement ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux. Ce sont en particulier les belles recherches de Guilliermond qui ont largement contribué au développement de nos connaissances à ce sujet. Cependant les travaux du savant français, on le sait, ont porté principalement sur la morphologie de la cellule de levure. L'étude de la morphologie des bactéries a été quelque peu négligée jusqu'à présent, et les résultats obtenus sont encore très controversés.

En présence de ce fait et en raison de l'importance du problème, j'ai cru utile d'entreprendre des recherches systématiques sur la cytologie de divers groupes de schizomycètes. Je suis parvenu à établir, par des méthodes appropriées, que toutes les bactéries possèdent un noyau ou des corpuscules équivalents qui participent à la division de la bactérie. On peut démontrer, par ces méthodes, que la division des bactéries se fait par une *amitose* compliquée, étant donné que les corpuscules nucléaires sont toujours liés par des *filaments*. Chez les bactéries sporogènes seules, on observe, avant la formation de la spore, une véritable *mitose*, comme l'a déjà observé Guilliermond, chez la levure.

Ces recherches feront l'objet d'une publication prochaine ; dans les lignes qui suivent je résume mes observations concernant le bacille tuberculeux.

Dans un travail antérieur (1), j'ai déjà pu montrer que la

(1) *Centralblatt f. Bakt.*, I. Abt. **66**, fasc. 1, p. 143.

cellule des bacilles tuberculeux renferme des fragments qui se distinguent nettement du plasma et que ces fragments se présentent sous forme de granulations. Ces observations concordent avec celles de Spengler (1) et de Kronberger (2). Comme on le voit dans la figure 1, ces granulations sont situées sur les bords du bacille, ainsi que dans le plasma lui-même. Dans certaines conditions, ces granulations se débarrassent du plasma et peuvent alors subsister à l'état vivant (« granulations métachromatiques » de Babès et « granules » de Much); on parle alors de « granulations libres ».

La figure 2 montre des granulations de ce genre, soit ramassées en amas de dimensions variables, soit à l'état isolé. La plupart des auteurs qui se sont occupés de la question considèrent ces corps cellulaires comme une partie intégrante du bacille ; ces vues s'accordent avec celles exprimées, il y a déjà longtemps, par Babès (3). Cependant, pour A. Meyer (4) et ses élèves, ces granulations ne constituent que des matières de réserve, des corps gras, etc. Ce sont les « grains de volutine », selon la terminologie de ce dernier auteur.

Les avis restent encore partagés pour ce qui concerne la signification biologique de ces granulations. D'après Babès, Koch, Nocard et Roux, Metchnikoff, entre autres, ces granulations joueraient le rôle de spores ou de formations analogues. Nous étions nous-même partisan de cette hypothèse qui est adoptée par mon maître Spengler, ainsi que par Kronberger. Cependant mes recherches ultérieures sur la morphologie des bactéries en général, et tout particulièrement mes recherches sur le bacille tuberculeux, m'ont amené à une conclusion différente.

Voici d'abord la méthode de coloration que j'ai employée dans mes recherches.

1° On mélange bien un fragment de crachat avec une goutte d'une solution de ferrocyanure de potassium à 2 p. 100 ; on étale avec soin entre deux lamelles pour former une couche extrêmement mince et bien homogène.

(1) Spengler. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1907, n° 9.
(2) Kronberger. *Beiträge z. Klinik der Tuberkulose*, **16**, p. 42.
(3) Babès. Les Bactéries, Paris, 1890, 3e édition. *Zeitschr. f. Hygiene*, **20**, 1895.
(4) A. Meyer. *Die Zelle der Bakterien.*

2° On laisse bien dessécher à l'air et on lave à l'eau pour se débarrasser du ferrocyanure.

3° On colore à la fuchsine phéniquée jusqu'à l'ébullition du colorant (on répète cette opération plusieurs fois), on lave bien.

4° On différencie et l'on décolore avec une solution alcoolique d'iode dans l'iodure de potassium (2,5 à 3 grammes d'iode sublimé, 1 gr. 25 à 1,5 d'iodure de potassium dans 100 cent. cubes d'alcool à 80 p. 100).

5° On traite par une solution aqueuse d'acide picrique (1 partie d'une solution saturée dans 20 parties d'eau) pendant quelques minutes.

6° On traite de nouveau avec la solution d'iode pendant une à deux secondes, et on lave.

7° Nouveau traitement avec la solution diluée d'acide picrique pendant deux à trois secondes.

8° On lave bien, on laisse dessécher et l'on observe au microscope.

Dans une autre méthode, j'emploie l'acide chromique et l'hématoxyline. Voici comment on opère d'après cette méthode :

1° La préparation est traitée comme dans la première méthode.

2° On traite avec une solution d'acide chromique à 5 p. 100 pendant trente à quarante secondes, on lave bien.

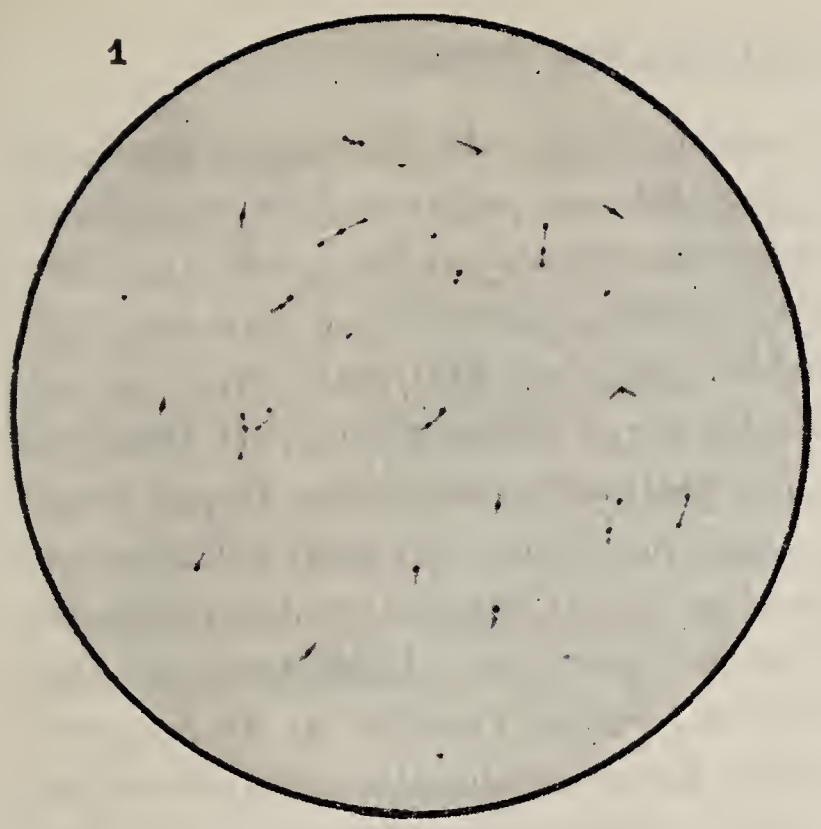
3° On colore avec une solution d'hématoxyline (Delafield) en chauffant la préparation jusqu'à l'ébullition ; on lave.

4° On colore avec la fuchsine phéniquée et l'on différencie comme dans la première méthode.

Ce sont les bacilles du crachat qui se prêtent le mieux à ces études morphologiques ; les bacilles jeunes donnent les meilleurs résultats. Les bacilles vieillis et décomposés montrent des granulations qu'on connaît et qu'on voit sur la figure 3. Les cultures pures se prêtent moins bien à ce genre d'études ; seules, les bactéries jeunes peuvent être employées.

Traitées par les méthodes qui viennent d'être indiquées, les bacilles tuberculeux se présentent sous une forme tout autre que ceux colorés par les anciennes méthodes indiquées par Spengler, par Kirchensteins, par Much et par d'autres auteurs.

1



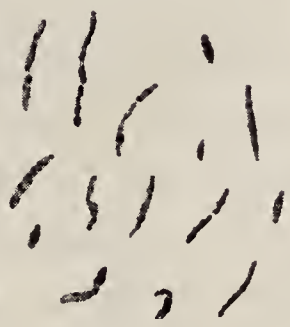
4

a

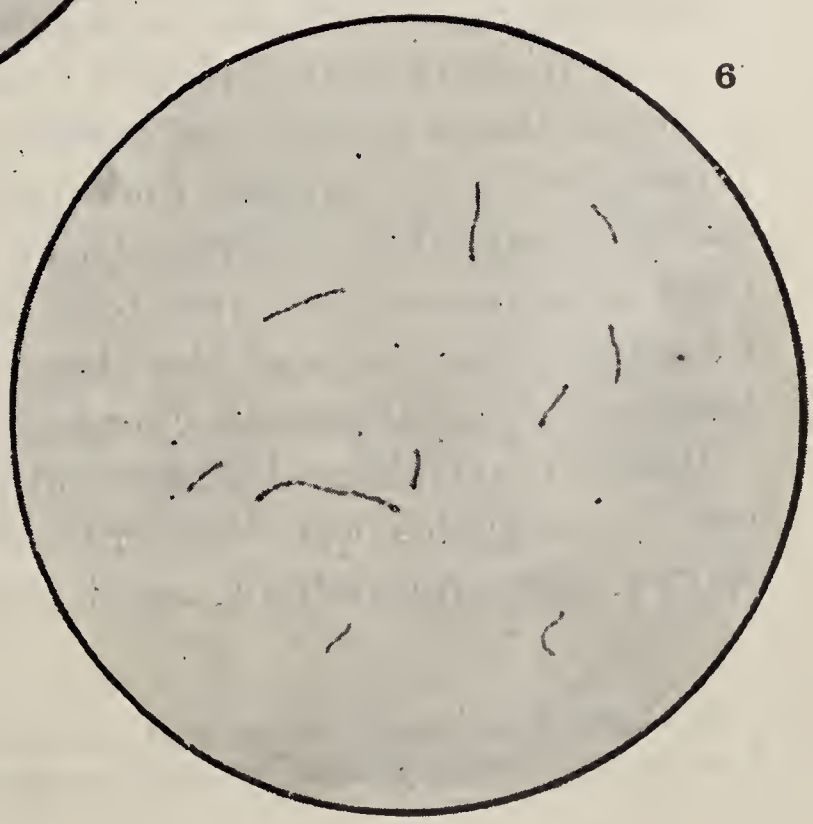
b

2

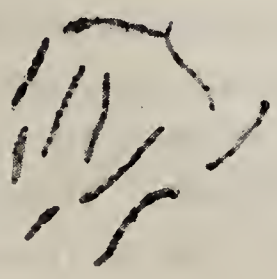
5



6



3



Les bacilles apparaissent sous la forme de bâtonnets ténus et fusiformes qui, outre les granulations polaires déjà signalées, renferment encore des corpuscules situés sur les bords opposés. Dans les préparations bien réussies, on observe que ces corpuscules sont liés ensemble par des filaments fins (fig. 4 et 5). On peut admettre que les corpuscules qu'on voit dans les préparations, colorées par les méthodes anciennes et qui remplissent toute la cavité du corps bacillaire, se sont formés par la réunion des granulations séparées et situées sur les bords du bacille. Le mode de traitement que nous indiquons a pour résultat d'empêcher précisément cette réunion ou de séparer les granulations déjà formées. Chez des bacilles vieillis ou en train de se décomposer, on distingue nettement, par les méthodes indiquées, des corpuscules séparés dans les corps bacillaires atrophiés (1).

Quel est le rôle de ces corpuscules? Sans doute, il s'agit ici de *noyaux* du bacille tuberculeux ou de corpuscules nucléaires analogues. Nous sommes arrivé à cette conclusion par nos études sur la structure d'autres bactéries, et nos observations sur la division du bacille tuberculeux nous ont confirmé dans cette opinion. On voit, notamment, lorsqu'on poursuit la multiplication de ce bacille, qu'avant la division, un petit noyau apparaît au bord de la paroi cellulaire; un filament fin conduit de ce noyau vers l'autre noyau qui apparaît ensuite. Tout d'abord, c'est le premier noyau qui se divise en même temps que le filament, ce qui a pour résultat l'apparition d'une sorte de triangle dans le plasma du bacille. Le deuxième noyau se divise alors à son tour, et enfin a lieu la division du bâtonnet lui-même. Je suis parvenu quelquefois à observer des bâtonnets courts et jeunes qui renferment à un bout deux noyaux (fig. 4, *b*). Ceux-ci se rassemblent ensuite et forment les noyaux polaires. Le même processus peut être observé très souvent chez d'autres bacilles et, en particulier, chez les bactéries sporogènes.

Peut-on considérer les granulations qu'on met en évidence par les méthodes qui viennent d'être indiquées, comme des spores? Ces granulations, aussi bien celles qui se trouvent à

(1) Les formes incurvées se sont montrées comme étant constituées par 2 ou 3 individus bacillaires pas encore détachés de la cellule mère.

l'état libre que celles qui restent incluses dans le corps bacillaire (1), peuvent donner naissance, il est vrai, à la formation de nouveaux bâtonnets (2), et c'est cette circonstance, très probablement, qui a conduit certains auteurs à les considérer comme des spores ou des formes cellulaires analogues. Nos observations ne justifient nullement une telle conception. Encore moins justifiée nous paraît l'opinion suivant laquelle il s'agirait là de produits de décomposition ou de dégénérescence du bacille tuberculeux, comme nous le ferons voir dans une publication prochaine.

(1) On ne sait pas encore si ces granulations séparées du corps bacillaire ou « granulations nues » portent encore des résidus plasmatiques. Dans tous les cas, ces granulations se distinguent chimiquement des granulations qui restent incluses dans le corps bacillaire : les premiers notamment prennent une coloration plus foncée, lorsqu'on les colore par la méthode à l'acide picrique indiquée par Spengler.

(2) J'ai poursuivi moi-même les transformations de ces granulations en bâtonnets dans l'organisme tuberculeux (*Beiträge zur Klinik der Tuberkulose*, **30**, 1914, p. 33).

LÉGENDES DES FIGURES

Fig. 1. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat. Coloration d'après la méthode de Kirchensteins (à l'iode et l'osmium).

Fig. 2. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat. Granulations en amas et à l'état isolé ; coloration d'après la méthode de C. Spengler (à l'acide picrique).

Fig. 3. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat. Formes vieillies, partiellement décomposées.

Fig. 4. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat : *a*) formes jeunes et granulations se transformant en bâtonnets ; *b*) la division d'un bacille tuberculeux.

Fig. 5. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat. Formes vieillies.

Fig. 6. — Bacilles tuberculeux provenant d'un crachat, formes allongées partiellement décomposées ; quelques granulations isolées ; coloration d'après la méthode de Spengler (à l'acide picrique).

SUR QUELQUES MICROBES THERMOPHILES STRICTEMENT ANAÉROBIES

par R. VEILLON.

Si l'on consulte les travaux concernant l'étude des microbes thermophiles (1), on remarque que les nombreux microbes qui ont fait l'objet de ces travaux appartiennent, soit à des espèces *aérobies strictes*, soit à des espèces *facultatives*; il n'en est pas décrits qui soient *strictement anaérobies*, c'est-à-dire ne pouvant exister et se développer qu'en l'absence totale de toute trace d'oxygène.

Dans la bibliographie très détaillée que donne sur la question M. L. Nègre, Oprescu est cité comme ayant étudié des espèces obligatoirement anaérobies. A ce sujet, M. Nègre dit ceci (2) :

« Il est intéressant de noter les relations qui existent entre la vie aérobie et la thermobiose. Sans l'ériger en loi générale, on peut dire que, dans un très grand nombre de cas, les bactéries thermophiles obligatoires sont aérobies obligatoires, les bactéries thermophiles facultatives sont aérobies facultatives. Toutes les espèces décrites jusqu'à présent peuvent vivre en vie aérobie. Oprescu seul a décrit trois espèces qui sont *obligatoirement anaérobies* (3). »

En nous reportant aux travaux d'Oprescu, nous avons vu que ce savant décrit cinq espèces de thermophiles qu'il cultivait à 55° et sur l'aérobiose desquels il fait, à la fin de son étude, la remarque suivante : « L'affirmation de L. Rabinowitch, que les thermophiles seraient facultativement anaérobies est incorrecte ; nous avons observé des espèces *qui ne se développent pas du tout*

(1) L. Nègre, Les microbes thermophiles. *Bull. Inst. Pasteur*, **10**, n° 9, 15 mai 1912, p. 385, et n° 10, 30 mai 1912, p. 433.

(2) *Bull. Inst. Pasteur*, **10**, n° 9, 15 mai 1912, p. 390, les 7 dernières lignes et p. 391, les 2 premières lignes.

(3) *Arch. f. Hyg.*, **33**, p. 164, 1898. — *Hygien. Rundschau*, **8**, p. 107, 1898.

dans une atmosphère soigneusement débarrassée d'oxygène. On ne peut pas nier l'influence de l'oxygène sur la sporulation du bac thermophile étudié au début. » L'auteur indique ensuite dans une série de tableaux la façon dont se comporte en présence d'hydrogène (Wasserstoff) — ce qui revient à dire : en l'absence d'oxygène — chacun des bacilles qu'il a étudiés (1). Ces caractères d'aérobiose sont résumés dans le tableau suivant :

Croissance sous l'hydrogène.

P. 173, bac. nº 1. *Bacillus thermophilus liquefaciens* **aerophilus.**	Croissance sans formation de spores. Et dans le texte, nous lisons (p. 168) : Est capable de se développer sous l'hydrogène, mais *beaucoup plus lentement* et *pas aussi abondamment* qu'en présence d'oxygène.
P. 174, bac. nº 2. *Bacillus thermophilus aerobius.*	Aucune croissance.
P. 174, bac. nº 3. — *aquatilis.*	Aucune croissance.
P. 176, bac. nº 4. — *reducens.*	Aucune croissance sur la gélose glucosée.
p. 177, bac. nº 5. — *liquefaciens tyrogenus.*	Croît *aussi* sous l'hydrogène ; la formation des spores n'est pas influencée.

L'examen de ce tableau amène à conclure que les bacilles 2, 3, 4 sont des *aérobies stricts*, et les bacilles 1 et 5 des *facultatifs*. D'ailleurs, la méthode d'isolement qu'employait Oprescu lui aurait difficilement permis d'isoler des anaérobies stricts. Voici ce qu'il dit à ce propos (p. 166) :

« Pour l'isolement des espèces particulières, nous avons suivi une méthode qui est très employée dans notre Institut d'hygiène. Il s'agit d'obtenir d'abord un enrichissement des germes. Dans ce but nous portions le matériel d'ensemencement dans un tube de bouillon qui était placé vingt-quatre heures dans une étuve réglée à 55°. Puis les cultures étaient versées à diverses dilutions dans des boîtes de Petri, et l'isolement était continué par des ensemencements répétés sur de la gélose inclinée à 2 p. 100. »

(1) Studien über thermophile Bacterien, von Dr. V. Oprescu aus Bukarest (aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin). *Archiv für Hyg.*, **33**, p. 164, 1898.

C'est bien là un procédé classique d'isolement des aérobies ou des facultatifs, et non des anaérobies.

En résumé, de tout ce qui précède, il résulte que la question de l'existence des microbes *thermophiles anaérobies stricts* nous a paru être restée entière ou seulement effleurée. C'est pourquoi nous avons voulu voir s'il était possible d'en isoler et étudier quelques espèces en employant les procédés modernes d'isolement et de culture des anaérobies stricts.

TECHNIQUE EMPLOYÉE

Isolement. — Pour isoler les microbes qui nous intéressaient nous avons employé la technique suivante, seule d'un emploi pratique pour l'isolement et la culture des anaérobies. Elle repose sur le principe des cultures en couche profonde dans un milieu solide débarrassé d'oxygène par l'action permanente d'un corps réducteur qui lui est incorporé.

Pour faire l'isolement, nous faisions fondre au bain-marie à 100°, pendant dix à quinze minutes, une dizaine de tubes de gélose glucosée en couche profonde, que nous placions ensuite dans de l'eau à 38°, ce qui permet au milieu de rester en surfusion, donc encore fluide pendant toute la durée de l'ensemencement. Puis, à l'aide d'une pipette flambée à longue effilure, nous portions dans un premier tube un peu du matériel à ensemencer (dans le cas particulier ce fut soit des fragments de fumier, soit quelques gouttes de purin), que nous délayions le plus parfaitement possible par agitation prolongée dans toute la longueur du tube, de façon à faciliter la dissémination des germes; et sans la recharger, toujours en l'agitant, mais moins longtemps, nous transportions successivement la même pipette dans les autres tubes. Ceux-ci étaient alors plongés dans l'eau froide pour solidifier rapidement la gélose. Cherchant à isoler des espèces thermophiles, nous placions les tubes dans l'eau d'un bain-marie (1) dont nous fixâmes la température d'abord à 50° et par la suite élevâmes jusqu'à 55° et 58°.

(1) Le bain-marie est bien préférable à l'étuve à air chaud quand il s'agit d'obtenir une température élevée et constante.

Dans ces conditions ne pouvaient *subsister* que des microbes ou des formes de résistance (spores) de microbes qui, tout en ne se développant pas à 50°, pouvaient néanmoins résister plus ou moins longtemps à cette température et rester susceptibles de reprendre leur développement normal quand on les replacerait à leur température optimum. Ne pouvaient se *développer*, en donnant naissance à des colonies visibles à l'œil nu, que des microbes nettement *thermophiles*, ou tout au moins *thermotolérants*.

Culture et conservation des espèces. — Pour entretenir ces espèces nous les repiquions en gélose glucosée profonde et nous avons toujours fait deux séries parallèles, une à 55° et l'autre à 37°.

Culture en milieux liquides. — Dans le cas de petites quantités de liquide, 15 à 20 cent. cubes pour lesquelles le tube à essai est suffisant, nous avons employé le dispositif indiqué par Roux. Pour des quantités plus importantes, 250 à 300 cent. cubes, nous utilisions l'appareil très pratique imaginé par M. Mazé et qui consiste en un matras de verre d'un litre de capacité environ, à l'épreuve de l'autoclave et de la pression, terminé par un long col dont l'orifice est muni d'une fermeture sous le mercure absolument étanche et qui constitue l'originalité du système. Grâce à ce dispositif, on peut prélever sans contamination du milieu, sans arrêter la culture et à n'importe quel moment, les gaz que l'on veut analyser. Pour les tubes comme pour les matras les mêmes manipulations étaient nécessaires, c'est-à-dire : ensemencement, ébullition dans le vide, rinçages au gaz d'éclairage et fermeture en scellant sur le vide.

Culture en gélatine. — Pour observer l'action liquéfiante sur la gélatine, on utilisait des tubes de gélatine glucosée que l'on ensemençait largement après fusion et que l'on faisait prendre par refroidissement. A la surface de la gélatine solidifiée on coulait de la gélose glucosée sur 2 à 3 centimètres d'épaisseur de manière à former, après solidification, un bouchon protégeant la gélatine de l'action de l'oxygène de l'air, et l'on versait sur ce bouchon de gélose un peu d'huile d'olive

stérile pour éviter la dessiccation. Les tubes étaient placés à la température nécessaire, et après quelque temps on regardait si la gélatine faisait prise comme au début quand on la refroidissait. Si la gélatine restait liquide, c'est que le microbe avait sur elle un pouvoir liquéfiant.

RÉSULTATS OBTENUS

Nous avons fait trois isolements à 50°, en gélose glucosée profonde et en suivant la technique précédemment décrite. Comme matériel d'ensemencement, nous avons pris, dans un cas du purin (1) et, dans deux autres, du fumier de ferme (2).

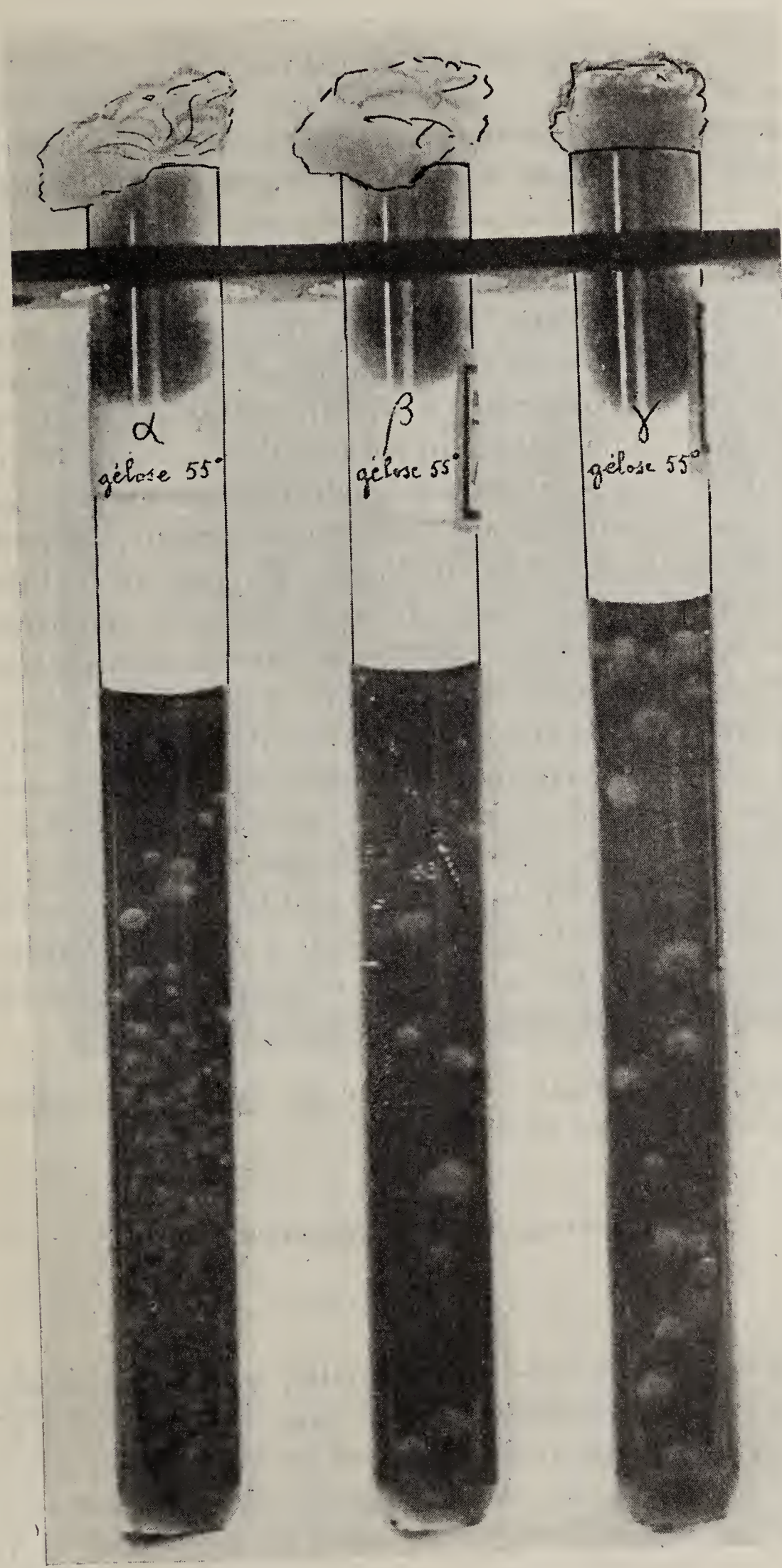
Après quarante-huit heures à 50°, deux colonies apparurent dans la zone *anaérobie* des tubes ensemencés avec le purin : l'une était une colonie nuageuse produite par un bacille anaérobie qui avait donc résisté et pu se développer pendant un certain temps, mais qui périt sous l'action prolongée de la chaleur, car repiqué dans un tube profond neuf, placé à 50°, il ne put s'y développer de nouveau ; l'autre colonie était petite, ronde et produite par un autre bacille anaérobie que l'action prolongée de la chaleur n'incommoda pas, car repiqué dans un tube neuf placé à 50° il s'y développa à nouveau.

Dans un des tubes ensemencés avec du fumier apparurent, après quarante-huit heures environ, à 50° et toujours dans la zone *anaérobie*, deux colonies rondes, une grosse et une petite, produites par des bacilles différents. Chacune de ces colonies repiquée dans des tubes neufs placés à 50° continua à croître à cette température.

Ces trois bacilles vivant à 50° n'étaient pas des facultatifs, car ils *ne se développèrent jamais* dans la zone supérieure aérée de la gélose qui dissout l'oxygène de l'air sur une épaisseur d'environ 1 à 2 centimètres. D'ailleurs ils ne poussèrent jamais sur aucun autre milieu aéré.

Nous avions donc isolé trois espèces différentes de microbes *anaérobies stricts et thermophiles* que nous désignerons par les lettres α, β, γ.

(1) Provenant d'une région de l'Est de la France.
(2) Provenant d'une région du Poitou.



Thermophiles anaérobies.
Culture de vingt-quatre heures en gélose profonde à 55°.

Conditions de culture.

Aérobiose. — α, β, γ sont des anaérobies stricts, la façon dont ils ont été isolés et dont ils cultivent le prouvant nettement.

Action de la température. — A la température ordinaire du laboratoire qui variait entre 18, 20 et 22°, α, β, γ ont une croissance extrêmement lente, presque nulle, même après deux et trois mois. C'est à cette température que nous laissions les souches pour les conserver. A 37°, ils cultivent très bien en donnant des colonies beaucoup plus nombreuses qu'à 55°, mais moins volumineuses. Suivant la qualité de la gélose employée, les colonies apparaissent après un temps variable, souvent en moins de douze heures et habituellement en vingt-quatre heures. A 50°, ils croissent également bien, c'est à cette température que nous les avons isolés. A 55°, les cultures sont aussi bonnes qu'à 50°. A cette température de 55°, et quand la gélose est bien préparée et favorable, α, β, γ croissent très vite ; plusieurs fois les colonies atteignirent des dimensions volumineuses et définitives en moins de douze heures ; habituellement, avec une gélose de qualité moyenne il leur faut de vingt-quatre à quarante-huit heures. A 55° les colonies sont toujours plus volumineuses qu'à 37°, probablement parce que, à cette température, la gélose est plus près de son point de fusion qu'à 37° et se laisse ainsi plus facilement pénétrer.

Température mortelle. — Ils ne se développent plus et meurent aux environs de 58°.

Description des microbes.

Thermo α.

Aspect microscopique. — Gros bacille, plutôt très allongé, à formes nettes, extrémités carrées dans les cultures à 37° ; formes quelquefois incurvées, souvent grêles et très allongées dans les cultures à 55°. A cette température les extrémités du bacille sont peu nettes et prennent un aspect pointu. Les bacilles de l'espèce α se groupent rarement, et quand cela se

produit ils forment des chaînettes plus ou moins contournées comprenant jusqu'à dix éléments. Dans les premières semaines qui suivirent son isolement ce bacille présentait une spore terminale qui résistait à un chauffage de 80° pendant trente minutes. Dans la suite de son existence *in vitro*, il perdit la

Thermo α. — Culture de vingt-quatre heures à 55°. (Gross. : 1.850 diamètres.)

faculté de donner des spores bien que conservant rigoureusement toutes ses autres propriétés.

Mobilité. — Th. α est immobile à 37° et 55°.

Coloration. — α se colore bien par les couleurs d'aniline quand il a été cultivé à 37°, mais moins bien quand il provient de cultures à 55°. Il ne prend pas le Gram.

Caractères des cultures. — Dans le *bouillon ordinaire*, dans le vide, α pousse aussi bien à 37° qu'à 55° en produisant en vingt-quatre ou quarante-huit heures un trouble abondant ; la

culture finit par se rassembler au fond des tubes et le bouillon redevient limpide, il y a production abondante de gaz. Dans la *gélatine glucosée profonde*, α pousse bien à 37°. On ne peut voir l'aspect des colonies, car il liquéfie la gélatine.

Dans la *gélose glucosée profonde*, il donne des colonies à 37° et 55° en vingt-quatre ou quarante-huit heures selon la qualité de la gélose employée. Ces colonies sont rondes, punctiformes quand on ensemence largement et qu'elles sont serrées, mais toujours sphériques, nébuleuses et volumineuses à 55°, présentant l'aspect de houppes dont les éléments partent du centre vers la périphérie. Les gaz produits ne gênent pas trop et sont presque totalement absorbés dans la gélose glucosée additionnée de 1 p. 1.000 de nitrate de potassium (1).

A 37° il coagule le *lait*, en solubilisant nettement la caséine (trois jours environ). A 55°, il coagule plus vite le lait, mais en solubilisant beaucoup moins la caséine. A 37°, Th. α solubilise complètement dans le vide un cube d'*albumine* d'œuf coagulée introduit dans un tube de bouillon ordinaire, à 55° il solubilise également l'albumine, mais moins complètement qu'à 37°. A 37° et 55°, il n'agit pas sur la *cellulose* introduite dans du bouillon ordinaire sous forme de fragments de paille ou de papier Berzélius.

Thermo β.

Aspect microscopique. — Bacille généralement assez allongé, plutôt grêle et très délié, parfois incurvé, à extrémités souvent peu nettes, aussi bien à 37° qu'à 55°, se présentant assez souvent sous l'aspect de diplobacille et formant parfois de petites chaînettes plus ou moins incurvées, presque circulaires, ne comportant pas plus de trois, cinq, ou six éléments. Ne donne pas de formes filamenteuses dans les vieilles cultures; ne donne pas de spores.

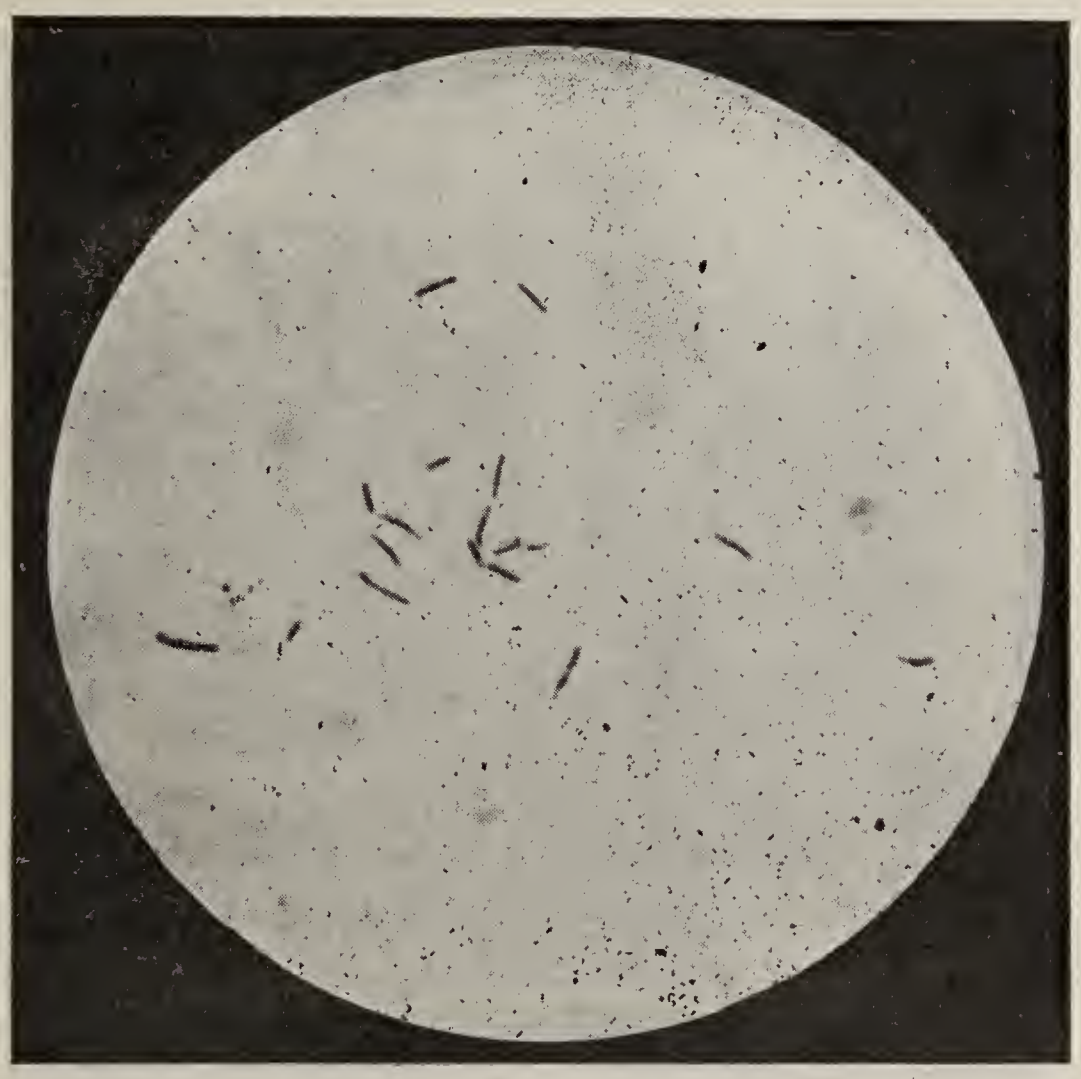
Mobilité. — Th. β est immobile.

Coloration. — Se colore bien par les couleurs d'aniline quand

(1) Voir A. Veillon et Mazé, De l'emploi des nitrates pour la culture et l'isolement des microbes anaérobies. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 22 janvier 1910.

il a été cultivé à 37°, mais moins bien quand il a été cultivé à 55° ; ne prend pas le Gram.

Caractères des cultures. — Dans le *bouillon ordinaire*, dans le vide, pousse aussi bien à 37° qu'à 55°, en vingt-quatre ou quarante-huit heures en produisant des gaz et un trouble qui disparaît quand la culture est tombée au fond des tubes. Ne



Thermo β. — Culture de vingt-quatre heures à 55°. (Gross. : 1.850 diamètres.)

liquéfie pas la *gélatine glucosée profonde*, dans laquelle il croît en donnant de petites colonies punctiformes. En *gélose glucosée profonde*, pousse bien à 37° et 55° en donnant des petites colonies sphériques, punctiformes à 37°, beaucoup plus volumineuses et en forme de houppes à 55°. Il y a production de gaz qui sont presque entièrement absorbés par le milieu nitraté. Il coagule le lait à 37° en solubilisant la caséine ; à 55° il le coagule également et solubilise davantage de caséine, le milieu se colore en se caramélisant légèrement. A 37° et 55° il est sans action sur l'*albumine* et la *cellulose*.

Thermo γ.

Aspect microscopique. — Petit bacille grêle et court, plus petit que le précédent, se présentant très souvent sous l'aspect de diplobacilles se groupant en petites chaînettes droites ou plus ou moins incurvées comprenant de trois à six éléments,

Thermo γ. — Culture de vingt-quatre heures à 55°. (Gross. : 1.850 diamètres.)

prend parfois des formes coccobacillaires associées par deux et formant elles-mêmes de petites chaînettes de diplococcobacilles, il se présente parfois sous la forme de grands éléments filamenteux et flexueux plus ou moins enchevêtrés ; dans les cultures à 55°, il donne des formes à extrémités fuyantes et peu nettes ; ne donne pas de spores.

Mobilité. — Th. γ est immobile à 37° et 55°.

Coloration. — Se colore bien par les couleurs d'aniline

quand il a été cultivé à 37°, mal quand il l'a été à 55°. Ne prend pas le Gram.

Caractères des cultures — Dans le *bouillon ordinaire*, dans le vide, Th. γ pousse bien à 37° et 55° en troublant le milieu et donnant des gaz. Le milieu s'éclaircit quand la culture tombe au fond. Il ne liquéfie pas la *gélatine glucosée profonde* dans laquelle il pousse bien en donnant des colonies punctiformes. Dans la *gélose glucosée profonde*, il pousse bien à 37° et 55°, en donnant des gaz. Les colonies sont petites, rondes et punctiformes à 37°, volumineuses, sphériques et en houppes à 55°. Il coagule le *lait* à 37° et 55° en solubilisant plus de caséine à 55° qu'à 37°. Il est sans action sur l'*albumine* et la *cellulose* à 37° et 55°.

Action de α, β et γ sur les sucres.

Pour étudier correctement cette action, nous avons employé la technique suivante :

Dans des tubes moyens de 18 × 18, nous placions 0 gr. 3 exactement pesés de carbonate de chaux chimiquement pur, dans le but de saturer au fur et à mesure de leur production les acides provenant de la fermentation des sucres ; nous ajoutions 0 gr. 2 exactement pesés du sucre étudié et 10 cent. cubes exactement mesurés de bouillon Martin. Pour les témoins nous préparions des tubes semblables mais sans sucre. Tous ces tubes étaient stérilisés par un chauffage à 110° pendant trente minutes. Pour l'étude de l'action de chaque bacille et à chaque température nous préparions 1 tube témoin et 2 tubes d'un même sucre. Dans quelques tubes supplémentaires nous dosions le sucre et le carbonate de chaux qui restaient réellement après la stérilisation, car nous avons observé qu'après cette opération les quantités étaient différentes de celles introduites primitivement. Le bouillon Martin avait lui-même un pouvoir réducteur dont nous tenions compte. Pour les résultats nous prenions la moyenne des deux tubes à sucre.

Au moment de l'emploi, on chauffait les tubes pendant quelques minutes à 100° pour chasser la majeure partie de l'air dissous, on les refroidissait rapidement sans les agiter, on

ensemençait largement avec, autant que possible, une même quantité de semence et après ébullition dans le vide et rinçage au gaz d'éclairage, on scellait sur le vide.

Nous laissions agir les bacilles pendant des temps qui furent variables et parfois très longs, entre vingt-quatre jours et plusieurs mois suivant les cas, ayant constaté qu'ils étaient encore vivants après vingt-six jours à 37° et vingt-sept jours à 55°.

Après quoi nous ouvrions les tubes, puis les chauffions à 100° pendant trente minutes, de manière à tuer les bacilles et pour faciliter la saturation du carbonate de calcium par les acides formés; il ne restait plus qu'à doser par la méthode précise indiquée par Bertrand, les quantités restantes de sucres non transformés. Les différences avec les quantités qui existaient avant l'ensemencement correspondaient aux quantités disparues.

On évaluait les quantités d'acides formés en dosant le carbonate de calcium qui restait dans les tubes. Les différences avec les quantités existant avant l'ensemencement donnaient les quantités saturées par les acides formés aux dépens des sucres.

Résultats obtenus. — Ils sont indiqués dans les tableaux suivants.

En résumé, les Thermophiles α, β et γ font fermenter à 37° et 55° des sucres simples comme le glucose, le lévulose et le galactose, et des disaccharides comme le saccharose, le lactose et le maltose en donnant des quantités d'acides sensiblement proportionnelles, d'une façon générale, aux quantités de sucres disparues.

A 37°, la proportion de sucre simple disparu varie de 27 à 100 p. 100, avec une acidité totale, évaluée en acide acétique, allant de 12 à 44,5 p. 100 du sucre primitif; la proportion de disaccharide disparu varie de 7,4 à 100 p. 100, avec une acidité totale allant de 0 à 38,8 p. 100 du sucre primitif.

A 55°, la proportion de sucre simple disparu varie de 8,3 à 46 p. 100, avec une acidité totale, évaluée en acide acétique, allant de 5,2 à 13,5 p. 100 du sucre primitif; la proportion de disaccharide disparu varie de 9,8 à 56,4 p. 100, avec une acidité totale allant de 1,6 à 19,4 p. 100 du sucre primitif.

Action des thermophiles anaérobies α, β, γ sur les sucres à 37° et 55°.

NATURE du SUCRE	NOM du BACILLE	TEMPÉRATURE de la culture	DURÉE	PRESSION au moment de l'ouverture du tube	ODEUR	QUANTITÉ EXACTE de sucre avant l'ensemencement	SUCRE RESTANT à la fin de la culture	SUCRE DISPARU	SUCRE DISPARU p. 100	ACIDITÉ TOTALE FORMÉE évaluée en acide acétique	ACIDITÉ TOTALE p. 100 DU SUCRE PRIMITIF évaluée en ac. acétique
		degrés				gr.	gr.	gr.		gr.	
Glucose.	α	37°	24 jours.	légère.	de cuit.	0,155	0 et 0,006	0,155-0,149	100 et 96	0,039	44,5
	β	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	0,082	0,073	47	0,036	23,2
	γ	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	0,075	0,080	51,6	0,039	25
	α	55°	24 jours.	légère.	de cuit.	0,155	0,142	0,013	8,3	0,012	7,7
	β	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	0,140	0,015	9,6	0,021	13,5
	γ	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	0,105	0,050	32,2	0,018	11,6
Lévulose.	α	37°	8 mois.	forte.	de pourri.	0,174	0	0,174	100	0,060	34,2
	β	Id.	5 mois.	Id.	inodore.	Id.	0,008	0,166	95,4	0,051	29
	γ	Id.	6 mois.	Id.	Id.	Id.	0,030	0,144	82,7	0,045	25,6
	α	55°	8 mois.	nulle.	de pourri.	0,174	0,115	0,059	34	0,018	10,2
	β	Id.	5 mois.	légère.	inodore.	Id.	0,103	0,071	40,8	0,021	12
	γ	Id.	6 mois.	nulle.	Id.	Id.	0,114	0,060	34,4	0,018	10,2
Galactose.	α	37°	3 mois.	légère.	de pourri.	0,170	0,124	0,046	27	0,021	12
	β	Id.	Id.	forte.	inodore.	Id.	0,023	0,147	86,4	0,045	26,1
	γ	Id.	Id.	moyenne.	Id.	Id.	0,075	0,095	55,8	0,015	8,7
	α	55°	3 mois.	nulle.	inodore.	0,170	0,117	0,053	31,1	0,009	5,2
	β	Id.	Id.	forte.	Id.	Id.	0,092	0,078	46,0	0,009	5,2
	γ	Id.	Id.	nulle.	Id.	Id.	0,103	0,067	39,4	0,012	7

Action des thermophiles anaérobies α, β, γ sur les sucres à 37° et 55°.

NATURE du SUCRE	NOM du BACILLE	TEMPÉRATURE de la culture	DURÉE	PRESSION au moment de l'ouverture du tube	ODEUR	QUANTITÉ EXACTE de sucre avant l'ensemencement	SUCRE RESTANT à la fin de la culture	SUCRE DISPARU	SUCRE DISPARU p. 100	ACIDITÉ TOTALE FORMÉE évaluée en acide acétique	ACIDITÉ TOTALE p. 100 DU SUCRE PRIMITIF évaluée en ac. acétique
		degrés				gr.	gr.	gr.		gr.	
Saccharose.	α	37°	7 mois.	moyenne.	de pourri.	0,183	0,088	0,095	52	0,012	6,5
	β	Id.	Id.	Id.	inodore.	Id.	0	0,183	100	0,069	37,2
	γ	Id.	Id.	forte.	Id.	Id.	0	0,183	100	0,072	38,8
	α	55°	7 mois.	nulle.	de pourri.	0,183	0,104	0,079	43	0,036	19,4
	β	Id.	Id.	légère.	inodore.	Id.	0,165	0,018	9,8	0,003	1,6
	γ	Id.	Id.	nulle.	Id.	Id.	0,132	0,051	27,8	0,021	11,3
Lactose.	α	37°	8 mois.	nulle.	de pourri.	0,175	0,162	0,013	7,4	0	0
	β	Id.	12 mois.	légère.	inodore.	Id.	0,060	0,115	65,7	0,033	18,8
	γ	Id.	12 mois.	forte.	lég. de cuit	Id.	0,046	0,129	73,7	0,033	18,8
	α	55°	12 mois.	nulle.	lég pourri.	0,175	0,140	0,035	20	0,009	5,1
	β	Id.	Id.	Id.	inodore.	Id.	0,127	0,048	27,4	0,012	6,8
	γ	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	0,110	0,065	37,1	0,012	6,8
Maltose.	α	37°	10 mois.	forte.	de pourri.	0,179	0,042	0,137	76,5	0,051	28
	β	Id.	Id.	Id.	de cuit.	Id.	0	0,179	100	0,057	31,3
	γ	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	0	0,179	100	0,060	33
	α	55°	10 mois.	nulle.	de pourri.	0,179	0,155	0,024	13,4	0,009	5
	β	Id.	Id.	Id.	inodore.	Id.	0,078	0,101	56,4	0,030	16,5
	γ	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	0,092	0,087	48,6	0,030	16,5

Nature des produits obtenus dans l'action de α, β et γ sur le glucose.

Afin de pouvoir caractériser ces produits avec quelque certitude, il était nécessaire d'opérer sur de plus grandes quantités que celles contenues dans des tubes. Le milieu suivant fut préparé :

Bouillon ordinaire non salé	200 cent. cubes.
Glucose pur	4 gr.
CO^3Ca pur	léger excès.

placé dans les ballons à fermeture sous le mercure précédemment décrits, stérilisé, ensemencé, privé d'air et placé dans une chambre étuve à 21° pendant sept mois. Après ce séjour, les ballons furent ouverts; avec α on eut une forte pression due aux gaz produits, une légère pression avec β, et aucune pression avec γ.

Le liquide de fermentation fut additionné d'un léger excès de soude pour être certain de bien retenir tous les acides produits et distillé à sec dans le vide. Dans les produits volatils on pouvait retrouver les alcools, ils furent analysés à part; le résidu sec fut additionné d'un peu d'eau et d'acide sulfurique pour mettre en liberté les acides volatils séparés ensuite par distillation dans le vide et caractérisés par la méthode de Duclaux. Les autres corps furent identifiés par leurs réactions chimiques classiques.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus :

NATURE DU BACILLE	PRESSION A L'OUVERTURE du ballon	ODEUR	GAZ PRODUITS			ALCOOLS	AMINES	INDOL	SCATOL	NATURE DES ACIDES VOLATILS produits	ACIDITÉ VOLATILE TOTALE en acide acétique	ACIDITÉ VOLATILE TOTALE % de glucose en acide acétique
			CO^2	H^2S	AzH^3							
α	forte.	de pourri.	P.	P.	P.	0	P.	0	0	propionique butyriq.	gr. 1,444	35
β	légère.	pas.	P.	P.	P.	0	P.	0	0	acétiq. prop.	0,838	21
γ	nulle.	pas.	P.	T.	P.	propylique.	0	0	0	acétiq. prop.	0,761	19

Nota. — P. signifie Présence; T. signifie Traces.

Les Thermophiles α, β, γ sont-ils pathogènes ?

Trois cobayes furent respectivement injectés sous la peau avec 2 cent. cubes de cultures en gélose glucosée des différents thermophiles : l'injection du Thermo α provoqua après trente-six heures un abcès banal qui suppura, puis guérit spontanément; celle du Th. β ne produisit rien, pas même d'abcès; celle du Th. γ provoqua un petit abcès qui suppura et guérit spontanément comme dans le cas de α, et les trois cobayes restèrent en bonne santé. Donc α, β et γ ne sont pas sensiblement pathogènes.

CONCLUSIONS

Il existe des microbes thermophiles ou plus exactement thermotolérants strictement anaérobies. On en a trouvé dans des fumiers de diverses provenances : c'étaient des bacilles correspondant à trois espèces différentes dont une seule était sporogène. Tous les trois peuvent se développer entre 20° et 58°. Tous les trois coagulent le lait en digérant plus ou moins la caséine. L'espèce α digère l'albumine cuite.

Tous font fermenter les sucres en donnant des acides volatils (acétique, propionique, butyrique) et des gaz (acide carbonique, hydrogène sulfuré, ammoniac); certains donnent des amines. Ils ne sont pas pathogènes.

L'action destructive de ces microbes sur les matières organiques est intéressante parce qu'elle peut se faire jusqu'à 58°, température que nous savons pouvoir exister fréquemment dans les fumiers en fermentation.

LE MICROBE DE LA GOMME DU SUCRE

par H. VIOLLE.

Historique.

De la plupart des substances alimentaires végétales, contenant du saccharose, tels que les dattes, figues, coings, cannes à sucre, betteraves, carottes, etc., et certains de leurs dérivés (fruits confits, confitures, mélasses, sirops simples ou composés), on parvient à isoler un micro-organisme très intéressant par ce fait qu'il transforme rapidement les milieux sucrés primitivement liquides et limpides en masses visqueuses et opalines.

Jadis les sucriers et les raffineurs assistaient, impuissants, à l'étrange mutation en substance compacte et gélatineuse de solutions de mélasses. Tel est le cas si connu où 5.000 kilogr. de ce produit, contenant 10 p. 100 de saccharose, furent, en l'espace d'une douzaine d'heures, transformés ainsi.

Ce phénomène était relativement fréquent; on désignait le produit obtenu sous le nom de « gomme des sucriers ».

Plusieurs botanistes en étudièrent la cause, mais c'est à deux savants français, Durin et Van Tieghem, que nous devons les premiers intéressants travaux sur la question. Durin reconnut parfaitement que la « gomme » était due à la présence de petits grains, de la grosseur d'une épingle, que l'on trouvait en abondance dans le fond des cuves contaminées. Ces grains, en effet, isolés, lavés abondamment à l'eau froide, puis plongés dans une solution nutritive et sucrée, proliféraient activement, produisant dans leur nouveau milieu les transformations de teinte et de consistance dont nous venons de parler.

Mais lorsqu'il voulut déterminer la nature de ces grains et les cultiver sur des milieux solides, tels que des tranches de carottes, il ne parvint à isoler que des levures, analogues d'ailleurs à celles qui étaient la cause déjà connue des fermentations banales des sucres. Ces levures, qui coexistent presque

toujours avec le microbe gommeux et qu'il était difficile, à cette époque, de bien séparer de cet élément, surtout lorsqu'on ne fait usage que de milieux sucrés, n'étaient qu'impuretés.

Van Tieghem parvint à cultiver le microbe véritable des grains. Ces corpuscules ressemblaient, à son avis, lorsqu'on les examinait au microscope, à certaines algues et principalement à des nostocs, à des leuconostocs : même aspect glaireux, mêmes filaments gélatineux, mêmes cultures visqueuses. Par leur agglomération, ces grumeaux dessinent des masses encéphaloïdes ou mieux des anses intestinales. Il les désigna pour

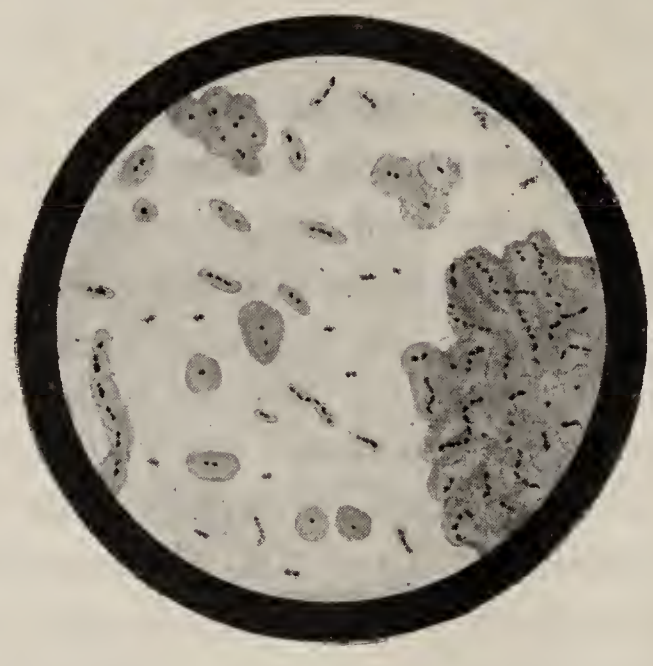


Fig. 1. — *Aspect du microbe de la gomme du sucre* dans les milieux naturels.

évoquer ce double caractère, sous le nom de *Leuconostoc mésenteroïdes* (fig. 1). Très patiemment, il étudia leur contenu; il vit qu'ils étaient à leur tour formés d'autres granules infiniment plus petits, situés les uns à côté des autres, en chapelets, tantôt deux par deux, tantôt en longues files de dix, vingt, trente éléments et même davantage. Ces *cocci* ou streptocoques furent décrits par l'illustre botaniste en 1877, à une époque où les streptocoques pathogènes, plus aisés à voir, parce que non entourés de capsule mucilagineuse, masquant entièrement leur contenu, n'avaient pas encore été étudiés par Louis Pasteur (1880).

Depuis cette époque, ce microbe, dans des milieux très différents, fut maintes fois rencontré; sous des noms fort divers, il fut très souvent décrit, mais, à notre avis, son étude nous a semblé bien incomplète, à cette heure surtout où quantité de

milieux, quantité de réactions permettent d'assez bien identifier un micro-organisme.

En dehors du travail intéressant d'Orla Jensen (de Copenhague) sur les ferments lactiques, qui, incidemment, range ce microbe parmi les *betacocci*, aucune étude n'en a été, à notre connaissance, faite ces dernières années.

Aussi nous permettons-nous de l'entreprendre ici succinctement.

I. — Morphologie.

A. Microbe. — Le microbe de la gomme du sucre se présente sous la forme d'un coccus analogue en dimensions aux grains moyens des streptocoques lactiques. Ces cocci sont tantôt isolés, tantôt réunis deux par deux, tantôt disposés les uns à la suite des autres, formant des chapelets de 10-12 grains, et parfois plus, tantôt groupés en petits amas de quelques éléments ou en énormes placards. Tous ces aspects, toutes ces dispositions se rencontrent fréquemment suivant que l'on emploie tel ou tel milieu.

Leurs dimensions sont également variables, non seulement dans différentes cultures, mais encore dans chacune d'elles (fig. 2 et 3).

B. Capsule. — Dans les milieux naturels (betteraves, dattes, etc.), le microbe gommeux est également entouré d'une capsule. Cette capsule peut n'être qu'une simple auréole, qu'un léger halo qui encercle finement le microbe ; il peut, dans d'autres circonstances, constituer une capsule énorme, une enveloppe aux dimensions extraordinairement grandes par rapport à celles de l'hôte qu'il entoure.

Dans une même préparation, on peut voir des éléments complètement nus, d'autres légérement voilés, d'autres entourés d'une gaine gigantesque. Cette gaine, peu translucide, empêche de bien voir le microbe qui est à l'intérieur et toujours dans la région centrale.

C. Grains. — Quand ces capsules sont de grandes dimensions et fort nombreuses, elles forment, en se réunissant les unes

aux autres, des amas visibles à l'œil nu qui peuvent atteindre 1 à 2 millimètres de diamètre.

Mais d'après nos constatations, ces gaines disparaissent rapidement lors de passages en milieux artificiels. Abondantes dans les premières cultures qui contiennent, avec la semence, les fragments solides de substratum (par exemple des fragments de betteraves), elles sont de plus en plus rares dans les suivantes.

Après trois ou quatre passages en milieu liquide sucré, la culture s'est pour ainsi dire stabilisée; elle a pris ses carac-

Fig. 2. — *Aspect du microbe de la gomme du sucre* dans des cultures en milieux simples.

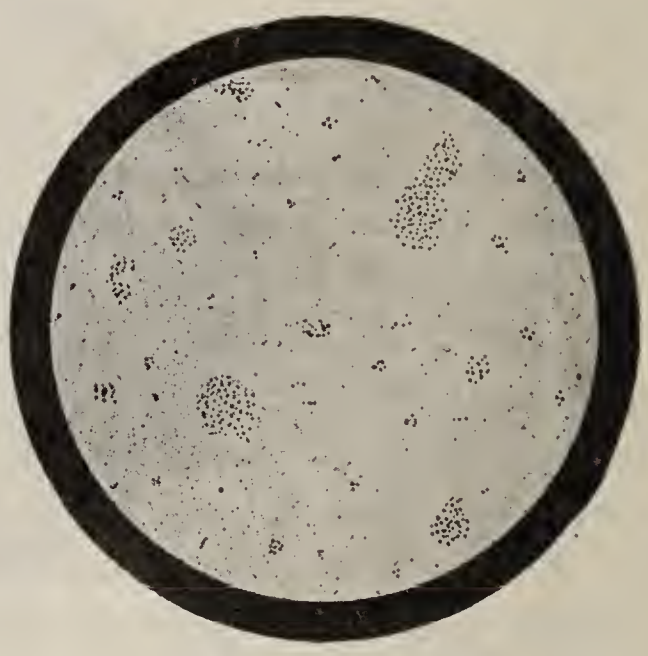


Fig. 3. — *Aspect du microbe de la gomme du sucre* dans des cultures en milieux sucrés.

tères définitifs : elle est composée généralement de diplocoques, entourés d'une capsule très fine analogue à celle du pneumocoque ou du bacille lactique glaireux, tel que nous l'avons décrit antérieurement (1).

Dans certains milieux, il est impossible de mettre en évidence des capsules. Tel est le cas avec le milieu formé de liquide d'ascite. C'est là d'ailleurs un fait intéressant à noter; il semble bien que la capsule mucilagineuse soit sécrétée par le microbe et cela en l'espace de quelques minutes. Cette sécrétion paraît être une fonction ancestrale du microbe, et ne se produire que là où l'élément doit se protéger contre les

(1) Ces *Annales*, XXXV, 218, 1921.

agents habituels de sa destruction. Elle se forme toujours chez les microbes se cultivant *in vivo*, dans les tissus des plantes plus ou moins hostiles à son développement; elle s'affaiblit dans tous les milieux *in vitro* favorables à sa prolifération. A l'inverse de certains microbes pathogènes, elle ne se forme point dans les milieux albumineux (albumine d'œuf, de lait, de sérum, d'ascite, etc.).

Ce microbe est immobile. Il ne présente point de spores.

II. — Coloration.

Il se colore bien par tous les colorants basiques, usuellement employés dans les laboratoires.

Il reste coloré par la méthode de Gram.

La capsule se teinte assez facilement par les procédés de double coloration.

III. — Culture.

Gélose ordinaire inclinée. — Sur gélose ordinaire inclinée (gélose au bouillon de bœuf et à la peptone), le microbe gommeux du sucre forme des cultures très grêles, comparables en tous points à celles des ferments lactiques ou à celles des streptocoques pathogènes : colonies de la grosseur d'une tête d'épingle. Fusionnées, elles forment un glacis, homogène, très mince (fig. 4).

Dans le fond de l'eau de condensation du tube s'amassent de petits grumeaux.

A 37°, la culture se développe en vingt-quatre heures; en quarante-huit heures elle atteint son plein développement.

Gélose aux haricots sucrée, inclinée. — Sur ce milieu à 37°, en vingt-quatre heures, le microbe s'est bien développé et d'une façon assez caractéristique. Les colonies ne tardent pas à se fusionner (en 48 heures); elles sont claires, translucides, semblables à de l'eau et « coulent », comparables en cela aux colonies de streptocoques glaireux. Les microbes offrent la forme de streptocoques.

Gélose aux haricots sucrée, en culot. — Se développe bien en vingt-quatre heures, à 37°, à la surface, disque plat, occupant toute la zone aérée. La culture est de plus en plus grêle au fur et à mesure qu'elle gagne la profondeur.

Un fait curieux à noter est le changement de coloration du milieu après plusieurs jours de prolifération du microbe. La gélose primitivement jaune doré, translucide, est devenue opaque suivant la ligne de culture microbienne. Les diastases sécrétées par les streptocoques ont diffusé rapidement dans toute l'étendue du milieu nutritif qui devient opaque et grisâtre, couleur café au lait, indiquant certainement une modification chimique du milieu, sans changement appréciable d'ailleurs de consistance de ce milieu.

Gélatine ordinaire inclinée. — A la température du laboratoire, le microbe gommeux présente les mêmes caractères que sur gélose ordinaire inclinée.

Gélatine aux haricots sucrée, inclinée. — C'est là le milieu de choix. En vingt-quatre heures, à la température du laboratoire, la culture est abondante ; les colonies sont translucides, offrant l'aspect de gouttes de rosée.

En trois ou quatre jours, elles deviennent énormes, perdent de leur translucidité et semblent recouvertes d'un enduit opaque, ou mieux de verre craquelé.

La culture « coule » et présente alors l'aspect d'un tronc d'arbre recouvert de givre (fig. 5).

Quelques jours après son début, se trouve rassemblé, dans le fond du tube, un liquide grumeleux, épais, abondant, dans lequel flottent des amas microbiens (aspect morphologique de staphylocoques).

Comme ce dépôt se fait assez rapidement, il n'y a pas liquéfaction de la gélatine. Le culot seul est légèrement atteint par les diastases protéolytiques et présente une encoche caractéristique (fig. 6).

Gélatine aux haricots sucrée, en culot. — A la température du laboratoire, le développement est abondant; en vingt-quatre heures, à la surface du milieu se forme un disque translucide. Le microbe se développe également dans toute l'étendue de la

piqûre, creusant en doigt de gant le milieu solide, et formant çà et là, par côtés, des diverticules. La liquéfaction s'opère lentement, progressivement et d'une façon continue, n'étant com-

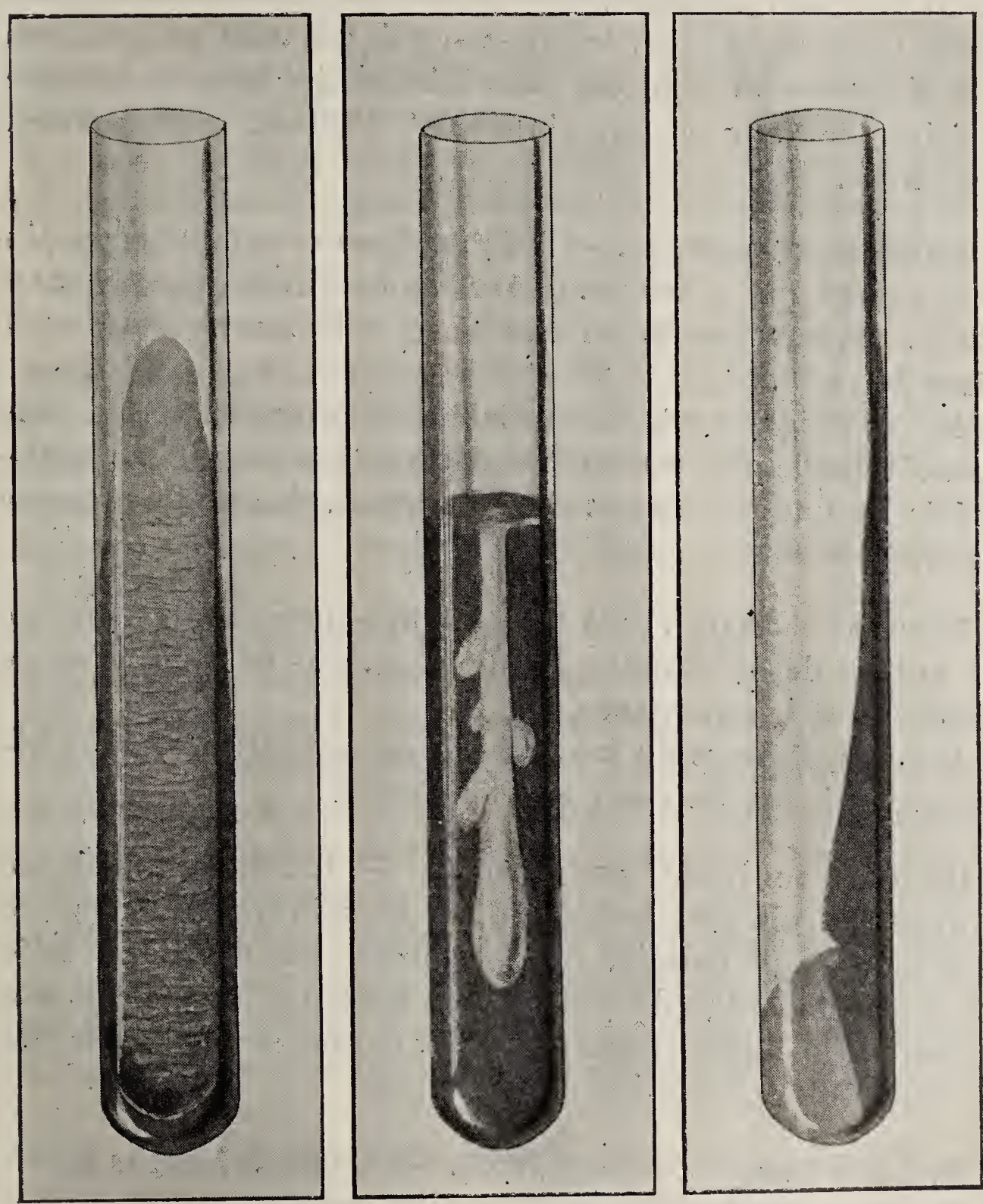


FIGURE 4.
Culture sur gélose.

FIGURE 5.
Culture en gélatine.

FIGURE 6.
Culture sur gélatine.

plète qu'en quinze jours, un mois et plus. A la période d'état, le tube présente une canalisation centrale avec des diverticules nombreux. Ces diverticules sont à peu près vides. Il semble que la gélatine, au fur et à mesure de sa liquéfaction, ait été détruite

en grande partie par le microbe. Cet aspect est tout à fait caractéristique. Le tube paraît renfermer des sacs de collodion réunis les uns aux autres par de petits opercules. Ces sacs contiennent dans leur fond des granules constitués par des bactéries agglutinées. D'après ces faits, les diastases liquéfiantes ne paraissent pas s'irradier au loin, car elles laissent des blocs de gélatine, voisine de leur champ immédiat d'action, complètement indemnes.

Carottes en tranches. — A 22°, culture abondante après dix-huit à vingt-quatre heures. La surface du milieu, primitivement sèche, devient humide et visqueuse; elle semble revêtue de sirop de sucre.

Microscopiquement, on constate des formes en cocci, rarement isolés, le plus souvent en placards, très nombreux, agglomérés les uns aux autres. Assez souvent, on note la présence de capsules.

Bouillon ordinaire. — A 37°, en vingt-quatre heures, trouble du milieu, dépôt abondant, grumeleux. Pas de voile. Pas de changement de consistance.

A la température du laboratoire, mêmes caractères que ci-dessus, mais apparaissant plus lentement.

Bouillon de viande aux haricots. — Excellent milieu de culture. En dix-huit heures, à 37°, trouble très prononcé de tout le milieu. Lourdes ondes moirées par agitation. Puis dépôt abondant. Pas de voile. Après quelques jours, le milieu s'éclaircit; le dépôt est très épais. La culture se rapproche par ses caractères de celle des streptocoques.

Bouillon de haricots saccharosé. — Dans ce milieu, le microbe gommeux du sucre prolifère extrêmement bien et sécrète des substances visqueuses, gommeuses, caractéristiques. Il est préférable, afin de pouvoir suivre l'évolution de consistance et d'aspect du milieu, d'opérer sur une assez grande quantité de matière, par exemple, dans de petits ballons de 250 cent. cubes.

A la température du laboratoire (15 à 20°), le milieu devient louche en vingt-quatre heures et légèrement visqueux. En deux à trois jours, il est opalescent et gommeux. Un fil de pla-

tine déprime la culture, y creuse un petit sillon au niveau du point d'enfoncement, et lorsqu'on vient à le retirer il étire la masse en fils opaques et gluants de quelques centimètres de longueur.

Lorsqu'on vide le ballon, la masse tombe, gluante, très visqueuse, donnant l'apparence d'une solution épaisse de gomme légèrement fluorescente.

A la température extérieure (en hiver, de 2 à 8°), les caractères ci-dessus sont longs à apparaître, mais ils sont plus accentués ; le liquide est beaucoup plus gommeux et l'on constate des formes capsulées plus nombreuses.

A la température de l'étuve (37°), le développement est extrêmement abondant, mais le milieu reste liquide. La culture, dans ce dernier cas, est identique à celle que l'on obtient dans un milieu non saccharosé. Les microbes sont disposés en longues chaînettes (formes streptococciques).

Lorsque le développement s'est fait dans d'excellentes conditions, on note :

1° Une prolifération très active du microbe ;

2° La présence de formes capsulées ;

3° L'opalescence et la viscosité du milieu.

Ainsi, la végétation du micro-organisme atteint son optimum à des températures élevées (37°). L'opalescence et la viscosité qui vont toutes deux de pair atteignent leur maximum d'intensité à de basses températures.

Les capsules sont difficiles à reproduire d'une façon constante, mais la viscosité ne paraît pas essentiellement liée à leur abondance et certaines cultures qui en étaient dépourvues présentaient une viscosité encore fort prononcée.

Bouillon de haricots saccharosé, additionné de chlorure de calcium a 5 °/₀. — Ce milieu favoriserait, d'après certains auteurs, la viscosité des cultures. En réalité, il ne paraît pas en être ainsi, du moins avec les échantillons microbiens que nous avons employés.

Bouillon de haricots saccharosé, additionné de carbonate de chaux (à saturation). — La viscosité des cultures est moins abondante dans ce milieu que dans les précédents ; les formes

capsulées y sont également plus rares. Par contre, les éléments y vivent plus longtemps. Ils se présentent généralement sous la forme de diplocoques.

Bouillon de haricots saccharosé, dilué, additionné de carbonate de chaux (à saturation) [milieu de conservation]. — Dans ce milieu peu nutritif les cultures sont très grêles ; par suite de la faible quantité de sucre, elles ne présentent jamais de viscosité; elles sont par contre très résistantes et plusieurs mois après le début de leur développement, elles sont encore en vie.

Les éléments microbiens se sont, les uns déposés sur le lit de carbonate de chaux qui a pour but de saturer les acides produits au fur et à mesure de leur formation, les autres enfouis dans ce dépôt, restant là fort longtemps à l'état de vie ralentie. Si on a soin de sceller le tube, de le placer dans un endroit frais, à l'obscurité, on peut aisément conserver vivantes les cultures de longs mois.

Lait. — Le lait ensemencé avec le microbe de la gomme du sucre ne présente jamais de viscosité. Il se coagule mais lentement. A 37°, la coagulation paraît être moins rapide qu'à la température ordinaire; elle peut parfois faire complètement défaut.

Laissé à la température du laboratoire, le lait ensemencé met une semaine, parfois plusieurs, avant de se prendre en masse. Par contre, après deux ou trois jours de développement, il se coagule lorsqu'on vient à le porter à l'ébullition : la faible acidité développée en quarante-huit heures l'a sensibilisé.

Voici les chiffres obtenus, exprimés en centimètres cubes de solution décimale de soude nécessaire pour neutraliser l'acidité :

Après vingt-quatre heures (à la température du laboratoire), pas de coagulation.

Témoin : 1 c. c. 6 Culture : 2 c.c. 5

Après six jours (à la température du laboratoire), coagulation.

Témoin : 1 c. c. 6 Culture : 4 c. c. 5

Lacto-sérum. — En dix-huit heures, culture assez grêle. Très légères ondes moirées. Pas de voile. Pas de dépôt.

En quarante-huit heures, culture assez développée. Ondes moirées très nettes. Pas de voile. Pas de dépôt.

Liquide d'ascite (dilué au cinquième avec de l'eau distillée). — Développement très grêle. Pas d'augmentation de viscosité. Pas de microbes capsulés.

Liquide d'ascite saccharosé a 10 p. 100. — A la température extérieure, développement très lent. Le milieu devient très épais, visqueux, blanchâtre, semblable à une solution d'empois d'amidon. Très nombreux cocci de dimensions énormes, aux contours variables, ne restant point colorés par la méthode de Gram ou ne le restant que partiellement.

Après deux mois, le milieu est totalement éclairci, limpide et liquide. Il est eau de roche. Dépôt très abondant, blanc crémeux.

Eau peptonée. — Pas de développement.

Eau peptonée sucrée. — Dans l'eau peptonée sucrée, voici les résultats obtenus après addition des différents corps hydrocarbonés. L'acidité est exprimée en centimètres cubes d'une solution de soude décimale nécessaire pour la neutralisation du milieu.

	Témoin	Culture	Différence	
Amidon	= 0,4	0,4	0	Culture très abondante.
Xylose	= 1,1	5,2	4,1	Culture assez abondante.
Inuline	= 0,6	0,6	0	Pas de culture.
Saccharose	= 1,4	4,8	3,4	Culture très abondante.
Lactose	= 1,5	5,0	3,5	Culture assez abondante.
Levulose	= 1,1	6,6	5,5	Culture abondante.
Raffinose	= 1,0	3,1	2,1	Culture abondante.
Arabinose	= 1,0	3,1	2,1	Culture abondante.
Raffinose et arabinose	= 1,5	7	5,5	Culture très abondante.

Dans aucun cas, il n'y a dégagement de gaz, comme on peut le constater par l'adjonction de petites cloches de verre aux tubes renfermant le milieu de culture.

On voit, par le tableau précédent, que le saccharose est attaqué par le microbe et que l'acidité produite est assez prononcée. Elle ne paraît d'ailleurs avoir aucune influence directe sur la production de la gomme, ne l'accélérant pas, ne la tempérant

point. Il en est d'ailleurs de même sur la vitalité du microbe qui peut supporter une acidité supérieure à l'acidité maxima produite.

Il était intéressant de savoir si certains de ces sucres avaient été dédoublés sous l'action des diastases du microbe de la gomme. Pour ce faire, nous avons ajouté de la levure de bière faisant fermenter les hexoses (glucose, lévulose, galactose).

Les résultats ci-dessous sont, à ce point de vue, tous négatifs :

		Action de la levure de bière
Microbe de la gomme du sucre ensemencé dans l'eau peptonée salée +	Amidon	—
	Xylose	—
	Inuline	—
	Saccharose	+
	Lactose	—
	Lévulose	+
	Raffinose	—
	Arabinose	—

IV. — Vitalité.

Sur gélatine sucrée inclinée, laissée à la température du laboratoire, il vit parfaitement deux mois. Il suffit donc, pour éviter toute surprise, de faire des repiquages tous les mois ou mieux encore tous les quinze jours.

En employant ce milieu, on a l'avantage de reconnaître immédiatement, par l'aspect de la culture, si cette dernière est contaminée ou non.

Voici un petit tableau des essais de cultures faites à des périodes de temps différentes :

Age de la culture sur gélose sucrée inclinée (température du laboratoire)	Résultat de l'ensemencement	
—	—	
1/2 mois	positif	
1 mois	—	
1 mois 1/2	—	
2 mois	—	
2 mois 1/2	—	(après ensemencement léger).
3 mois	—	(après ensemencement massif.
3 mois 1/2	négatif.	

Comme la plupart des microbes trouvés dans la nature et

isolés de produits végétaux, il supporte parfaitement les basses températures; bien mieux, il commence à proliférer dans des milieux relativement froids (5 à 6°). L'optimum de la température de développement paraît être vers 30-35°. A 40°, les cultures sont déjà un peu grêles. A 50°, le microbe ne se développe plus mais conserve sa vitalité, même soumis pendant plusieurs heures à cette température. A 60°, il est tué en un quart d'heure environ.

La présence de capsules ne paraît point modifier sensiblement la résistance du microbe à la chaleur. Il en est du moins ainsi lorsque, pour étudier cette résistance, on se sert de cultures liquides, placées en tubes scellés et plongés dans des bains-marie à température variable.

Par contre, une culture liquide, étendue sur une surface quelconque, résiste plus longuement à la dessiccation, toutes choses égales d'ailleurs, avec des formes capsulées qu'avec des éléments nus, ce qui était à prévoir.

V. — Réactions biologiques.

Le fait intéressant dans l'étude de ce microbe réside dans sa production, en milieu sucré, d'une substance visqueuse. Le sucre qui provoque la formation de ce produit est exclusivement le saccharose. La quantité à ajouter au milieu pour obtenir le maximum de viscosité est de 10 p. 100. Au-dessous, de 5 à 10 p. 100, la viscosité est plus faible; au-dessus, de 10 à 20 p. 100, elle reste stationnaire; de 20 à 30 p. 100, elle paraît légèrement diminuée.

Cette viscosité reste fonction du milieu qui doit être très nutritif et dont la composition doit se rapprocher de celle de son milieu d'origine; il doit donc renfermer des albumines végétales, des matières hydrocarbonées diverses [du saccharose en particulier] et des sels variés; le milieu artificiel au jus de haricots sucré est excellent.

Le produit visqueux précipite par l'alcool à 95°.

Le précipité lavé à l'alcool et redissous dans l'eau à différentes reprises :

1° Ne réduit pas la liqueur de Fehling;

2° Ne se colore pas par l'iode.

Traité par l'ébullition après adjonction d'acide sulfurique dilué, il réduit la liqueur de Fehling.

L'action de ce microbe sur les sucres est intéressante parce qu'il en fait, par ses diastases, fermenter un grand nombre et précisément de ceux qui se rencontrent plus particulièrement dans les substances végétales. De là à voir, dans ces phénomènes, un caractère ancestral, il n'y a qu'un pas, et cette hypothèse semble confirmée par ce fait que l'on peut très souvent déterminer le milieu et l'habitat ordinaire d'un microbe en connaissant les substances sur lesquelles il prolifère activement *in vitro* ou qu'il attaque d'une façon toute particulière.

Orla Jensen a décrit les microbes voisins de celui dont nous traçons l'histoire dans un groupe spécial de ferments lactiques, les *betacocci*. Parmi les espèces qu'il décrit, le *Betacoccus arabinosaceus* se rencontre toujours dans le rouissage des plantes textiles (chanvre, lin, etc.); or les substances pectinées qui sont soumises à cette opération contiennent, d'après Erhlich, un groupe « arabinose ».

Traitée par distillation, la culture visqueuse donne un distillat aromatique, contenant principalement de l'alcool (réaction positive au bichromate de potasse) et d'autres produits accessoires (aldéhydes, acides) en infimes proportions.

Il ne donne pas d'acétyl-méthyl-carbinol (réaction de Lemoine).

Nous avons vu que ce microbe était encore intéressant par son action diastasique sur les matières protéiques (liquéfaction de la gélatine, utilisée secondairement comme milieu nutritif, coagulation du lait, etc.).

Il ne paraît pas contenir de diastases hémolysantes (pas de lyse des globules rouges).

La bile ne paraît avoir aucune action favorable (ni accélération, ni développement dans les milieux biliés) ou défavorable (pas de lyse du microbe en présence de bile ou de sels biliaires).

Diastases réductrices. — Le microbe de la gomme ne paraît point contenir de diastases réductrices. Cultivé sur des milieux au sous-acétate de plomb, au rouge neutre, au nitrate de potasse, au bleu de méthylène, il ne les modifie point

Caractères pathogènes.

1° Chez l'homme, ce microbe est certainement dénué de tout pouvoir pathogène pour l'homme, qui en absorbe journellement des quantités plus ou moins importantes dans ses aliments d'origine végétale.

2° Chez l'animal. — *Ingestion.* On fait ingérer à des cobayes 10 cent. cubes de bouillon saccharosé (culture de vingt-quatre heures à la température du laboratoire). Les animaux n'éprouvent aucun symptôme morbide. L'un d'eux est sacrifié vingt-quatre heures après le début de l'expérience : le tube digestif ne renferme plus de microbes gommeux. Les selles des autres animaux contiennent de ces éléments en plus ou moins grande quantité pendant les vingt-quatre premières heures qui suivent l'ingestion.

Inoculation sous-cutanée. — On injecte 5 cent. cubes de bouillon (V. plus haut) sous la peau du flanc à des cobayes. Deux heures après l'inoculation, on constate déjà une boule d'œdème au point d'injection. A la section, les téguments sont très congestionnés ; le tissu cellulaire offre un exsudat gélatiniforme. Microscopiquement, on y constate la présence de nombreux microbes, les uns libres, les autres phagocytés avec leur petite capsule.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, l'œdème a complètement disparu ; on ne distingue plus, ni macroscopiquement, ni microscopiquement, aucune lésion.

Inoculation intrapéritonéale. — 5 cent. cubes de bouillon (V. plus haut) sont inoculés dans le péritoine de cobayes ; deux heures après, un des animaux est sacrifié ; la cavité abdominale est ouverte : sérosité assez abondante, translucide, incolore. Le liquide gommeux, opalescent, a disparu. Microscopiquement, nombreux microbes recouverts de leurs petites capsules inchangées. Léger début de phagocytose ; globules blancs mono- et polynucléaires nombreux.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, d'autres animaux sont sacrifiés ; ils ne présentent aucune lésion, ni reliquat de lésions macroscopiques ou microscopiques.

Tels sont les caractères principaux de ce micro-organisme. Cette bactérie extrêmement répandue dans la nature est intéressante par ce double fait que, d'une part, elle donne des produits gommeux dans les solutions saccharosées où elle prolifère, et que, d'autre part, elle se rencontre précisément parmi les substances végétales riches en ces mêmes produits mucilagineux.

Ces microbes ne sont point pathogènes et les produits qu'ils sécrètent ne sont point toxiques.

Peut-être dans l'avenir utilisera-t-on leurs propriétés pour transformer des solutions liquides en solutions gommeuses. Il sera toujours aisé, lors d'une expertise, de reconnaître la présence de ces microbes qui se trouveront alors en quantité abon-

dante. Comme les corps mucilagineux se forment aux dépens du saccharose, c'est-à-dire au détriment d'une substance de plus grande valeur, il ne semble point qu'il y ait intérêt à faire cette dégradation biologique. Toutefois, on se souvient que dans certains cas, comme dans la fabrication de la bière, on évite la transformation totale de l'amidon en sucre et par suite en alcool, afin de conserver par une proportion importante de dextrine non transformée, le moelleux si apprécié dans cette boisson et une teneur alcoolique moins élevée.

Quant à l'utilisation des gommes proprement dites, sécrétées par le microbe, puis isolées, purifiées, il semble qu'elle ne puisse être actuellement envisagée, car d'autres bactéries, dans certaines circonstances, sécrètent des substances analogues en plus grande proportion et possèdent une viscosité plus prononcée.

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1921

par JULES VIALA, Préparateur au Service antirabique.

Pendant l'année 1921, 998 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur de Paris : 1 est morte de la rage.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées	998
Mort	1
Mortalité p. 100.	0,10

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations depuis l'origine :

ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100	ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100
1886	2.671	25	0,94	1904	755	3	0,39
1887	2.770	14	0,79	1905	721	3	0,41
1888	1.622	9	0,55	1906	772	1	0,43
1889	1.830	7	0,38	1907	786	3	0,38
1890	1.540	5	0,32	1908	524	1	0,19
1891	1.559	4	0,25	1909	467	1	0,21
1892	1.790	4	0,22	1910	401	0	0,00
1893	1.648	6	0,36	1911	341	1	0,29
1894	1.387	7	0,50	1912	395	0	0,00
1895	1.520	5	0,38	1913	330	0	0,00
1896	1.308	4	0,30	1914	373	0	0,00
1897	1.529	6	0,39	1915	654	1	0,15
1898	1.465	3	0,20	1916	1.388	3	0,21
1899	1.614	4	0,25	1917	1.543	4	0,26
1900	1.420	4	0,28	1918	1.803	3	0,16
1901	1.321	5	0,38	1919	1.813	3	0,16
1902	1.005	2	0,18	1920	1.126	6	0,53
1903	628	2	0,32	1921	998	1	0,10

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories :

Catégorie A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Catégorie B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Catégorie C. — L'animal est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition entre ces catégories des personnes traitées en 1920 :

ANNÉE 1921	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100
Catégorie A. .	20	0	0	27	1	0	17	0	0	64	0	0
Catégorie B. .	36	0	0	144	0	0	232	0	0	412	1	0,54
Catégorie C. .	32	0	0	247	0	0	243	0	0	522	0	0
	88	0	0	418	1	0	492	0	0	998	1	0,10

Répartition par départements des 998 personnes traitées mordues en France.

Ardèche	1	Dordogne	1
Aisne	3	Doubs	5
Allier	8	Drôme	1
Ardennes	5	Eure	3
Aube	7	Finistère	30
Calvados	4	Gers	3
Cantal	18	Ille-et-Vilaine	54
Charente-Inférieure	5	Indre	13
Cher	12	Indre-et-Loire	8
Corrèze	12	Jura	8
Côte-d'Or	9	Landes	6
Côtes-du-Nord	46	Loiret	9
Creuse	14	Loir-et-Cher	10
Deux-Sèvres	7	Loire-Inférieure	47

Loire (Haute-)	4	Rhin (Haut-)	3
Lot	15	Saône	2
Lot-et-Garonne	3	Saône-et-Loire	8
Maine	2	Sarthe	5
Maine-et-Loire	15	Savoie	1
Manche	2	Seine	319
Marne (Haute-)	2	Seine-et-Marne	10
Mayenne	1	Seine-et-Oise	66
Meurthe-et-Moselle	1	Seine-Inférieure	14
Meuse	8	Somme	11
Morbihan	28	Tarn	1
Moselle	8	Tarn-et-Garonne	2
Nièvre	12	Vaucluse	1
Nord	4	Vendée	21
Oise	6	Vienne	11
Orne	1	Vienne (Haute-)	7
Pas-de-Calais	5	Vosges	4
Puy-de-Dôme	25	Yonne	10

Au point de vue de leur nationalité, les personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

Allemagne	6
Serbie	2
Suisse	1
Silésie (Haute-)	2

Soit 11 étrangers, 987 Français.

*
* *

Personne traitée morte de la rage après le traitement.

Duverger (Charles), dix-neuf ans, demeurant à La Charité (Nièvre). Mordu le 7 octobre à la main gauche : 3 morsures pénétrantes qui ont saigné.

Traité du 8 octobre au 1er novembre.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés le 6 décembre. — Mort le 8 décembre.

Chien reconnu enragé par M. Foncelle, vétérinaire.

Le même chien a mordu six personnes, très gravement, qui ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur, et qui se portent bien.

Les animaux inoculés avec le bulbe de l'animal mordeur ont pris la rage le trente-deuxième jour.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

HÉL. IUNG, PARIS

PHOT. EUG. PIROU

A. Laveran

ALPHONSE LAVERAN

1845 - 1922

36e ANNÉE JUIN 1922 N° 6

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

ALPHONSE LAVERAN

(1845-1922)

Il suffit de rappeler que A. Laveran a découvert la cause du paludisme et prévu la façon dont il se transmet pour comprendre les regrets unanimes que sa perte soulève chez les savants et aussi chez tout homme cultivé.

Pour apprécier justement le mérite de l'auteur de cette grande découverte, considérons le moment et les conditions où elle fut accomplie. En 1880, isolé de tout milieu scientifique, médecin militaire dans un hôpital algérien, Laveran s'attache à ce qui est particulier au paludisme à la mélanémie. D'où provient le pigment noir que l'on rencontre dans les capillaires du cerveau, de la moelle épinière et du foie chez ceux qui ont succombé à un accès pernicieux? Avec une persévérance, qui est un des caractères de son génie, Laveran s'obstine à la résolution de cette question. Il voit le pigment « dans les leucocytes et aussi dans des corps sphériques de volume variable, doués de mouvements amiboïdes, libres ou accolés aux hématies » et constate « des corpuscules formant des taches claires » dans les globules rouges. Tels sont quelques-uns des aspects sous lesquels lui apparaît le parasite de la malaria. Ce parasite a une évolution compliquée, Laveran en suit les phases, en décrit et en dessine les diverses formes. Quand il publie cette découverte si surprenante par sa nouveauté et ses conséquences, elle est accueillie avec un septicisme général. C'est qu'elle ne

cadrait pas avec les idées du temps. A cette époque on avait reconnu que plusieurs maladies infectieuses sont produites par des bactéries et certains expérimentateurs attribuaient à des bactéries la cause de la malaria. On était plus disposé à les croire qu'à suivre Laveran apportant un parasite aux apparences multiples et inaccoutumées. Cependant, Danilewsky trouve un parasite analogue dans le sang des oiseaux, Metchnikoff reconnaît la ressemblance entre l'évolution de l'hématozoaire et celle des coccidies; ils furent les premiers partisans de Laveran. Puis, se rallièrent ceux à qui Laveran montrait ses préparations. J'ai présente à l'esprit, comme si elle datait d'hier, la circonstance dans laquelle Laveran convainquit de la réalité de sa découverte Pasteur et ses collaborateurs. En 1884, Laveran était rentré à Paris et professait au Val-de-Grâce; un matin il vint au laboratoire de Pasteur, à l'École normale, et nous demanda de l'accompagner jusque dans son service pour examiner le sang d'un paludéen. Il nous montra, à l'état frais, un corps flagellé dont les fouets agitaient les hématies autour de lui; il nous expliqua comment l'évolution de la fièvre palustre correspondait aux différentes phases du parasite, il nous dit que, n'ayant pu découvrir l'hématozoaire dans le milieu extérieur, il croyait à sa transmission de l'homme malade à l'homme sain par l'intermédiaire des moustiques. De ce jour, Laveran n'eut pas de plus fermes partisans que les pastoriens.

La malaria est une pandémie des plus meurtrières; elle rend insalubres des territoires d'une immense étendue et les ferme à la civilisation. La découverte de la cause d'une semblable affection est à la fois un grand progrès scientifique et un bienfait pour l'humanité. Il semble que les dirigeants de notre pays, et en particulier ceux de la médecine militaire, auraient dû marquer leur reconnaissance envers le travailleur sagace et solitaire qui avait préparé l'économie de tant de vies humaines et la prospérité de vastes régions. Il n'en fut rien; ni les pouvoirs publics, ni les chefs du médecin-major, revenu d'Algérie après de si beaux services, ne s'émurent. La découverte de Laveran ne profita guère à son avancement, aussi, dès qu'il le put, en 1897, il quitta l'armée et vint à l'Institut Pasteur. C'est l'honneur de cette maison d'attirer les esprits indépendants épris de la recherche désintéressée.

Laveran a passé parmi nous les 25 dernières années de sa vie, développant avec bonheur l'étude des hématozoaires qu'il avait inaugurée et augmentant de sa renommée celle de l'Institut Pasteur. Il employa le prix Nobel qui lui fut attribué en 1907 à organiser le laboratoire où sont conservées ses collections et qui désormais portera son nom. Laveran fut pour nous un maître glorieux et un modèle d'ordre, de régularité et de probité dans le travail. Nous admirions son caractère qui ne connut aucune compromission, sa modestie, sa sévérité envers lui-même qui justifiait ses exigences à l'égard des autres. La maladie ne put l'arracher à son laboratoire, il s'y fit transporter jusqu'aux dernières semaines de son existence, ne voulant rien laisser en désordre de ce qui pouvait être utilisé après lui.

Ces qualités de ténacité, d'exactitude expliquent comment Laveran a pu accomplir tant de travaux; car, à ceux qui l'ont illustré, il faut ajouter de nombreuses publications sur la pathologie, sur l'anatomie pathologique et sur l'hygiène qui auraient suffi à lui acquérir une enviable renommée.

Laveran était d'un abord froid qui intimidait, en réalité c'était lui le timide; lorsqu'on avait pénétré dans son intimité, on était charmé par son aménité, par sa bonté délicate et par sa gaieté.

Ceux qui ont été admis près de lui dans les derniers temps de sa vie ont admiré la fermeté d'âme et la sérénité avec laquelle il voyait venir l'inévitable moment. Avec lui disparaît un bienfaiteur de l'humanité, une gloire française et un grand caractère.

COLLOIDES - CATALYSE - ANTIGÈNES - ANTICORPS

par M. NICOLLE et E. CÉSARI.

Nous avons montré précédemment (*Acad. des Sciences*, 1920), la concordance des idées de J. Duclaux sur les colloïdes (condensées dans sa monographie — Paris, 1920) avec notre conception des antigènes et des anticorps. Comme les recherches de notre savant ami et les nôtres ont été faites indépendamment et à des points de vue essentiellement différents (biologique, ici ; physico-chimique, là), cette concordance est vraiment remarquable.

Aussi, depuis notre publication, nous sommes-nous efforcés d'approfondir davantage le sujet. Tout d'abord, nous avons repris l'étude des colloïdes, comparant le texte de Duclaux et les nombreux documents accumulés par nous depuis des années ; d'où la vue d'ensemble que l'on va lire, laquelle suit l'ouvrage de Duclaux, en accentue le plan général et y ajoute certaines notions, indispensables selon nous. Ce bref exposé permettra de comprendre nos travaux, actuels et ultérieurs ; il pourra être également utile pour ceux qui désireraient confirmer (ou infirmer) notre manière de voir.

Nous avons été amenés, ensuite, à présenter un résumé, encore plus succinct, de la question « catalyse », surtout d'après le livre de Sabatier.

Nous abordons, enfin, les parties les plus difficiles de l'histoire des antigènes et des anticorps, cherchant jusqu'à quel point les travaux des auteurs et les nôtres permettent d'avancer sur ce terrain, sans sortir des bornes de la vraisemblance.

On trouvera, reproduit sous forme d'appendice, notre court mémoire « Unicité des anticorps », paru ailleurs, mais rendu difficilement compréhensible par des fautes (et omissions) typographiques Nous tenons beaucoup aux idées qu'il contient ; c'est pourquoi nous le réimprimons ici.

COLLOIDES

Les corps chimiques les plus variés peuvent revêtir l'*aspect colloïdal*; ils se présentent alors sous forme solide (gels) ou liquide (sols). Nous envisagerons surtout leurs « fausses solutions » en milieu aqueux (hydrosols).

Colloïdes, comme systèmes physiques.

On voit, habituellement, dans les colloïdes une série intermédiaire entre les cristalloïdes et les agrégats susceptibles de donner des suspensions grossières. Ils se distinguent avant tout des premiers par leurs propriétés physiques et des seconds par leurs propriétés chimiques.

Laissant de côté l'histoire des suspensions, nous allons montrer immédiatement comment les « fausses solutions » se différencient des solutions vraies. Les hydrosols ne dialysent pas. Ils se coagulent, même très dilués, sous l'influence de substances souvent quelconques, ajoutées parfois en minime proportion; la coagulation, généralement totale et très fréquemment irréversible, se traduit par l'apparition de flocons, engendrant des dépôts amorphes. Le poids moléculaire des colloïdes est fort élevé; ils ne traversent pas les filtres de collodion, dans les conditions où ceux-ci laissent passer très facilement les cristalloïdes. Ils offrent une hétérogénéité optique constante; l'ultra-microscope les « résout » fréquemment, montrant alors des grains plus ou moins brillants, animés de mouvements vifs et irréguliers (mouvements browniens), dénués de forme propre et souvent inégaux pour des échantillons divers du même produit. Les hydrosols, évaporés, laissent des résidus généralement insolubles; congelés, ils subissent volontiers des altérations marquées.

Colloïdes, comme combinaisons chimiques.

Les colloïdes, en « fausse solution », se composent donc de particules très fines, suspendues dans les liquides. Cet aspect rend aisément compte des propriétés physiques qui leur sont

communes à tous et qui s'opposent aux propriétés physiques des cristalloïdes, mais il ne saurait expliquer les modifications diverses qu'ils éprouvent sous l'influence des agents chimiques. C'est que la composition des particules et celle des liquides qui les entourent varie considérablement suivant les cas.

S'il ne faut pas voir dans les colloïdes de simples systèmes physiques, il ne faut pas y voir davantage des combinaisons chimiques « ordinaires », même très compliquées. On sait que les composés chimiques « ordinaires » se divisent, d'après Werner, en plusieurs catégories : composés binaires ou de premier ordre (dérivés binaires proprement dits et analogues), engendrés par la réunion d'atomes entre eux; composés de second ordre et d'ordre plus élevé, résultant de l'assemblage de molécules et chez lesquels des atomes peuvent se combiner directement à des atomes *et* à des molécules entières. La structure des composés binaires (et assimilables) se base sur la notion des valences classiques, souvent interprétée un peu largement; la structure des dérivés plus compliqués, des « complexes », fait intervenir par surcroît la notion des valences supplémentaires et des indices de coordination (Werner), sans lesquels il serait impossible de classer ces êtres chimiques et d'interpréter leurs réactions.

Les combinaisons « ordinaires » appartiennent au monde des cristalloïdes. Les colloïdes ne sont pas sans analogie avec les plus compliquées de celles-ci, mais ils en diffèrent nettement par des caractères essentiels et constituent une catégorie d'ordre encore plus élevé, au moins à certains égards. L'étude chimique des colloïdes artificiels (colloïdes de synthèse) fournit des indications précieuses sur leur constitution ; on admet, avec vraisemblance, que ces indications valent également pour les colloïdes naturels, encore très mal connus dans leur structure.

Les particules de chaque colloïde ou *micelles* se composent de molécules en « désordre » formant, pondéralement, la majeure partie du « complexe » et de l'un des réactifs qui leur ont donné naissance, ce dernier représentant au contraire la plus faible portion de l'ensemble. Les molécules en désordre répondent, suivant les cas, à des individus chimiques fort divers ; elles sont souvent susceptibles, dans d'autres circon-

stances, d'exister à l'état cristallin (théoriquement, elles le sont toujours). Les deux constituants de la micelle doivent être considérés comme combinés, au sens chimique du mot, bien que dans des proportions qui varient avec les conditions de l'expérience pour les colloïdes artificiels et avec les conditions naturelles pour les autres. Exemple : le ferrocyanure de cuivre colloïdal (obtenu quand on fait agir le ferrocyanure de potassium sur le sulfate de cuivre) représente une véritable combinaison de n molécules de ferrocyanure de cuivre et d'une molécule de ferrocyanure de potassium.

$$n\ FeCy^6Cu^2 + FeCy^6K^4 \text{ (formule dualistique provisoire).}$$

L'amas n $FeCy^6Cu^2$ constitue un bloc chimiquement inerte (tant que rien ne vient détruire sa structure), auquel le sel $FeCy^6K^4$ « prête » son activité. Le *bloc inerte* traverse, tel quel, toutes les métamorphoses du colloïde ; il peut se séparer de la *partie active* combinée, mais à la condition expresse de la changer contre une autre. Nous avons dit, au début, que les corps les plus variés peuvent revêtir l'état colloïdal. Il faut entendre par là que, dans ces conditions, ils ne sauraient exister isolés, qu'ils forment bien la majeure partie du complexe qui porte leur nom, mais que les réactions de ce complexe (doubles décompositions) passent sous la direction exclusive de leur « associé ».

Le liquide où s'agitent les particules, *liquide intermicellaire*, représente une solution « ordinaire » du même sel que celui qui forme la partie active de la micelle. Il existe un état d'équilibre obligé entre le sel dissous et le sel combiné. Quand on fait varier, de façon continue, la proportion des réactifs qui engendrent tel ou tel colloïde, la composition de la micelle (rapport quantitatif entre ses deux éléments) varie également de façon continue, ainsi que l'équilibre entre les concentrations du sel « associé », dans la micelle et dans le liquide ambiant.

La micelle, représentant un complexe (variable, on vient de le voir, selon les conditions, mais bien défini pour chaque ensemble de celles-ci), doit pouvoir être caractérisé par une formule unitaire, susceptible de rendre compte de ses « tenants et aboutissants ». Comment établir une telle formule ? En imitant ce qu'a fait Werner pour les composés minéraux cristal-

loïdes, en partant du point de vue électrolytique. Les « fausses solutions » colloïdales conduisent l'électricité : elles sont donc ionisées. Lorsque le courant les traverse, chaque micelle était déjà scindée en deux parties de masse très inégale, dont la plus volumineuse gagne l'une des électrodes et la plus petite l'électrode opposée. La première, le *granule*, renferme l'amas moléculaire inerte, « flanqué » d'un ou de plusieurs ions de la partie active (positifs ou négatifs), qui lui impriment leur signe ; la seconde comprend le ou les ions restants de la même partie active (dont le signe est opposé à celui des ions du granule) et qu'on nomme *ions libres de la micelle* (ils sont d'ailleurs plus ou moins libres, selon l'état de dissociation de cette micelle). La formule du ferrocyanure de cuivre colloïdal devient alors :

$$[n\ (FeCy^6Cu^2)\ FeCy^6]\ K^4.$$

L'ensemble entre crochets représente le granule, K^4 les ions libres. Une telle formule n'est pas sans analogie avec celles de Werner, ce qui devait arriver, puisqu'elle a été établie, disions-nous, d'après les mêmes principes; mais, ici, les molécules du bloc inerte restant assemblées sans ordre, la formation du complexe ne saurait obéir ni aux lois des valences, ni à celles de la coordination : il faudra chercher des principes plus généraux encore. Pourquoi, chez les colloïdes, les molécules du bloc inerte ne s'agencent-elles pas en édifices réguliers? Parce qu'elles sont constituées par des composés radicalement insolubles dans l'eau. Quand des molécules de semblables composés prennent naissance au sein de ce liquide, elles s'agglomèrent rapidement en amas désordonnés, contrairement aux molécules cristallisables qui, plus ou moins solubles, ont le temps de s'unir progressivement en structures géométriques. A la vérité, certains colloïdes cristallisent, le moment venu et, théoriquement, tous peuvent le faire, mais après un temps souvent indéfiniment long.

Colloïdes comme surfaces.

Après avoir étudié les colloïdes comme *systèmes physiques* et montré leurs différences avec les cristalloïdes, après les avoir considérés comme *combinaisons chimiques* et établi leurs

analogies non moins évidentes avec les complexes, il nous reste, pour parfaire notre conception, à les envisager comme *surfaces*, point de vue physico-chimique proprement dit. La question qui se pose alors est celle de l'adsorption.

On entend, par *adsorption*, la fixation d'une substance gazeuse ou dissoute (nous ne traiterons que ce dernier cas) sur une substance solide. Cette définition élimine, *ipso facto*, le simple mélange (dissolution) et la genèse de corps nouveaux (réaction chimique).

L'adsorption constitue un effet de surface, d'autant plus marqué que celle-ci est plus étendue. On peut dire, de façon générale, qu'il existe des corps très adsorbants (noir animal, fibres textiles) et des corps très adsorbables (matières colorantes). Toute adsorption est limitée par un équilibre entre les concentrations de « l'adsorbable », dans le liquide et dans l'adsorbant. Cet équilibre dépend de la nature des deux éléments en jeu, d'où spécificité incontestable. Voici ce que montrent les expériences. Quand on ajoute, à une quantité fixe d'adsorbant, des quantités successives d'adsorbable, les premières portions sont plus énergiquement retenues que les suivantes. En vertu du même effet, quand on ajoute, à des solutions de plus en plus faibles de l'adsorbable, une quantité fixe de l'adsorbant, ce sont les solutions les plus diluées qui s'appauvrissent proportionnellement le plus. La substance adsorbée, après fixation, s'élimine par les lavages; d'autant plus difficilement que l'adsorption a été plus énergique. Enfin, des recherches parallèles prouvent que la concentration dans l'adsorbant varie moins vite que la concentration dans le liquide; d'autant moins vite que l'adsorption s'opère plus énergiquement.

La formule empirique suivante rend compte de ces particularités et en indique de nouvelles, très importantes :

$$C_1 = KC_2^m$$

(C_1 = concentration de l'adsorbable dans l'adsorbant; C_2 = concentration de l'adsorbable dans le liquide; $m < 1$).

K représente un facteur de proportionnalité, m un facteur d'affinité (en prenant le mot affinité dans son sens le plus

général). Lorsque K se trouve doublé, triplé..., les quantités adsorbées se trouvent doublées, triplées... Si $m = 1$, on est dans le cas d'une simple dissolution (limite inférieure); plus m diminue et plus l'adsorption se montre typique; quand m devient très petit, l'allure du phénomène ne saurait être distinguée de celle d'une réaction chimique légitime (limite supérieure). Dans ce dernier cas, la concentration de l'adsorbable dans l'adsorbant reste pratiquement indépendante de sa concentration dans le liquide et la courbe représentative se caractérise par une ascension brusque, suivie d'un palier; il peut même y avoir saturation de l'adsorbant (effet vraisemblablement constant, mais encore mal connu).

Nous voyons clairement que l'adsorption se trouve régie par deux influences, l'étendue de la surface de l'adsorbant et les relations entre la nature de l'adsorbant et celle de l'adsorbable; influence physique et influence physico-chimique. C'est donc le type des phénomènes physico-chimiques et l'on ne s'étonne pas qu'elle résume, en système hétérogène, la série des états intermédiaires entre une « simple » dissolution et une combinaison « classique ». Mais comment imaginer cette série d'états? En admettant que les combinaisons chimiques ne représentent jamais, malgré les apparences, de subites transformations, qu'elles offrent un « cours » véritable et que leur aspect discontinu tient simplement à l'ignorance où nous sommes des individus, de vie souvent brève, qui relient les corps initiaux, stables, aux corps terminaux, également stables. Telle était la conception de Kekulé et de van't Hoff. Selon nous, on doit admettre (et rien ne semble plus logique) que toute réaction chimique est précédée de la formation de composés d'addition. Ceux-ci ont été rarement isolés, mais on les décèle de plus en plus facilement, à l'aide de l'analyse thermique (Ph. A. Guye, Menschutkine, Baume). Ce qui caractérise, d'après Ph. A. Guye, un produit d'addition, c'est le mode d'union des molécules en contact, lequel ne permettra que certains échanges d'atomes, lors de l'acte terminal (substitution). Tant que cet acte terminal ne s'est pas effectué, les phénomènes demeurent réversibles. On peut donc se représenter le phénomène de l'adsorption comme « couvrant » la série des associations de plus en plus « dirigées », dont la réaction chi-

mique constitue l'aboutissant naturel. Ce que nous venons de dire concerne, il est vrai, les systèmes homogènes, mais, dans les systèmes hétérogènes, la grande surface de l'adsorbant ne peut que favoriser l'union des molécules.

Revenons aux colloïdes. Ils offrent précisément une grande surface et un caractère insoluble, c'est-à-dire solide; on ne s'étonnera pas alors du rôle important que les phénomènes d'adsorption jouent dans leur histoire (les fibres textiles, citées plus haut, ont d'ailleurs la structure colloïdale). — Tout corps soluble, introduit au sein d'un hydrosol, se partage entre les micelles et le liquide intermicellaire, suivant les règles qui président à l'adsorption. Chez chaque colloïde, la distribution de la partie active, entre les micelles et le liquide intermicellaire, s'opère de même. Cependant, considérer la micelle comme un simple composé d'adsorption serait nier les faits les plus évidents. En tant que combinaisons, les colloïdes obéissent aux lois chimiques classiques; en tant que surfaces, ils obéissent aux lois physico-chimiques de l'adsorption; c'est le rôle de l'expérimentateur de faire la part des deux « obédiences », pour chaque cas particulier. La distinction peut être difficile; elle demeurerait impossible si l'on ne partait pas de notions clairement définies.

Stabilité des colloïdes. — Coagulation.

Comment expliquer la stabilité des colloïdes et, inversement, la perte de celle-ci, sous des influences variées?

La *stabilité* se trouve intimement liée à la *pression osmotique*. Par rapport au liquide ambiant, les micelles manifestent en effet une pression incontestable, laquelle dépend de leur nombre et surtout de leur degré d'ionisation. Il existe, pour chaque colloïde, une pression maxima, correspondant à la concentration maxima de l'hydrosol; au-dessous de cette valeur, on peut concentrer la « fausse solution » de façon réversible; au-dessus, elle se prend en gel habituellement irréversible.

Toutes les causes qui diminuent l'ionisation des micelles diminuent la pression osmotique maxima et, partant, la stabilité. Ainsi agissent: la dialyse, l'addition d'électrolytes

de toute espèce à dose massive ; l'addition de certains liquides, même non électrolytes ; l'addition d'ions identiques, comme nature, aux ions libres de la micelle ; la substitution de ces ions libres par d'autres (cause la plus importante) ; les phénomènes d'adsorption (cause très efficace). Inversement, on peut augmenter ionisation, pression osmotique et stabilité, en ajoutant à l'hydrosol, soit les corps qui constituent la partie active des micelles, soit des composés chimiques très voisins. Pour un colloïde donné, la stabilité se montre d'autant plus grande que les micelles sont plus petites.

La *coagulation* des hydrosols, qui survient au moment où la pression maxima atteint une valeur suffisamment basse, peut être déterminée par des substances indifférentes, agissant à dose massive ou par des substances spécifiques, agissant à dose faible, quelquefois très faible (surtout si la stabilité du colloïde est médiocre). Pour prévoir l'action de ces derniers composés, on a proposé diverses règles, qui manquent malheureusement de généralité. Il est certain que la valence de l'ion précipitant, dans le cas des sels métalliques, offre quelque importance. On conçoit, en effet, que si les ions monovalents d'une micelle se trouvent remplacés par des ions polyvalents, il s'ensuivra une baisse dans le nombre total des ions et dans le degré de dissociation électrolytique. Mais la nature propre des sels peut posséder plus d'importance que leur valence (sels de métaux lourds, notamment) et, d'autre part, dans le cas de double décomposition typique, le rôle de la valence s'évanouit. La règle des signes (Hardy, Billitzer) se montre plus générale. Que le signe de l'ion précipitant soit forcément opposé à celui du granule, rien de plus naturel ; mais le précepte cesse d'avoir un sens dans le cas des colloïdes amphotères et devient inapplicable dans celui des sels précipitants peu actifs, où l'ion efficace ne saurait être discerné.

Qu'elle reconnaisse pour causes des actions physiques de masse ou des effets soit chimiques (double décomposition), soit physico-chimiques (adsorption) — s'adressant au colloïde comme système, complexe ou surface — la coagulation survient fatalement dès que la micelle ne se trouve plus en équilibre avec le milieu ambiant, parce qu'elle est devenue incapable de former autant d'ions qu'il y en aurait dans un volume de ce

milieu égal au volume qu'elle occupe. Les mouvements des particules s'affaiblissent alors progressivement, chacune d'elles se rapproche de ses voisines et il se produit ainsi des amas de grandeur croissante, sur lesquels la pesanteur exerce une action également croissante.

Il arrive quelquefois d'observer le phénomène connu sous le nom de « solubilité dans un excès de réactif », le précipité formé reprenant l'état d'hydrosol stable, par addition ultérieure de sel coagulant. On doit admettre, pour expliquer ce fait, que la portion active des nouvelles particules se trouve représentée par le sel coagulant lui-même ; le colloïde change alors de signe, au moins dans la majorité des cas. Si l'on continue à ajouter du sel précipitant, une seconde coagulation peut survenir, comme effet de masse.

Les colloïdes réagissent les uns sur les autres de façon variable. Lorsqu'ils possèdent le même signe, on ne constate pas de coagulation, parce que leurs ions libres ne sauraient se combiner. Lorsqu'ils sont de signe différent, ils se précipitent au contraire le plus souvent, parce que les ions libres réagissent entre eux (quelquefois aussi, parce que les ions de l'un des colloïdes coagulent le granule de l'autre). Mais encore faut-il que les hydrosols soient mélangés en proportions convenables, pour que la précipitation se montre totale ; si l'on s'éloigne de ces proportions, elle demeure incomplète ou fait défaut, bien qu'habituellement il se produise une diminution de stabilité des deux colloïdes. Le contraire peut cependant s'observer, l'un des colloïdes jouant vis-à-vis du second le rôle dit « protecteur ». On sait, en effet, que les colloïdes stables « protègent » volontiers les colloïdes instables, non seulement au point de vue de la coagulation, mais encore au point de vue de la réversibilité. Il s'agit vraisemblablement de phénomènes d'adsorption. Les grosses micelles instables condensent autour d'elles les petites micelles stables ; l'ensemble constitue de nouvelles particules, se rapprochant par leurs propriétés de surface du colloïde protecteur et prenant même le signe de celui-ci, lorsque l'adsorption atteint un haut degré.

CATALYSE

Un grand nombre de réactions chimiques s'obtiennent par le simple mélange des composés en jeu, souvent aidé d'une élévation variable de la température (les énergies mécanique, lumineuse, électrique, peuvent remplacer éventuellement l'énergie thermique). Mais, assez fréquemment, aucune modification ne se produit ou bien les phénomènes observés affectent une allure très lente. Il arrive pourtant, que l'on réalise l'effet voulu, grâce à l'addition de certains corps, *en faible quantité*. Ces corps ne semblent pas intervenir « personnellement », car on les retrouve (théoriquement) inaltérés lorsque tout est fini : ils sont alors capables de servir à nouveau, de transformer ainsi (théoriquement) des quantités indéfinies de matière. On nomme de telles substances *catalyseurs* et l'action correspondante *catalyse*. Donc, sera catalyseur « tout corps qui, introduit en minime proportion au sein d'un système chimique, provoque ou accélère l'évolution de celui-ci, sans paraître participer à la réaction » (Moureu). Dans les réactions réversibles, les catalyseurs accélèrent également les vitesses des deux procès antagonistes et ne sauraient, par conséquent, déplacer la limite du phénomène. Quand une transformation « ne demande qu'à se faire », de nombreux catalyseurs la faciliteront ; dans le cas contraire, il faudra recourir à des catalyseurs « puissants » et doués d'une certaine *spécificité* (J. Duclaux).

Les substances dont nous parlons président aux modifications les plus variées, d'où la difficulté de donner une théorie générale de leur action. La seule façon de se représenter actuellement les choses consiste à admettre que le catalyseur intervient au cours de réactions intermédiaires très rapides, s'engageant et se dégageant sans cesse, pour reprendre sa liberté définitive lorsque s'arrête cette suite d'oscillations. Telle est l'opinion de Sabatier, laquelle nous paraît suffisamment démontrée par les faits et parfaitement conciliable avec les opinions différentes. Nous suivrons d'ailleurs de très près son exposé.

En milieu homogène, il semble difficile de nier l'importance des réactions intermédiaires, dont les produits ont été isolés

dans bien des cas et décelés dans d'autres par l'analyse thermique. Tantôt, le catalyseur fixe un élément et l'abandonne ensuite au corps qui va se transformer. Ailleurs (et inversement), il engendre un composé d'addition avec le corps à transformer et il abandonne ensuite ce corps, lui permettant de fixer un élément. Dans certaines circonstances, il contracte une combinaison avec le corps à transformer (double décomposition), puis cette combinaison se détruit dans un sens différent de celui auquel elle doit sa génèse et libère le catalyseur. Etc., etc...

En milieu hétérogène, les produits intermédiaires nous échappent le plus souvent, par suite de leur existence éphémère. On peut cependant parfois les dépister, si l'on fractionne artificiellement la réaction. On combine tout d'abord (température relativement basse) le catalyseur au corps à transformer, puis on élève la température : le corps se détruit dans un sens différent du sens de sa formation et libère le catalyseur. On recommence ensuite l'expérience, à la dernière température : le corps semble alors se décomposer « spontanément » de façon continue, devant le catalyseur simple « témoin ». Dans le cas des hydrogénations, la formation d'hydrures intermédiaires n'est pas directement établie. Elle serait superflue, pour les partisans de l'action purement physique des catalyseurs, qui se représentent, comme il suit, le mécanisme du phénomène. Les métaux finement divisés (jouant ici le rôle de catalyseurs) condensent, avec une extrême énergie, les substances à transformer, ainsi que les molécules d'hydrogène. Cet effet de surface se traduit par une concentration des corps en jeu, par une augmentation de pression et une élévation de température considérables (J. Duclaux), qui rendraient suffisamment compte des réactions observées. On peut faire remarquer que ces circonstances favorisent, au contraire, la formation et la destruction excessivement rapides des hydrures, lesquels demeurent les seuls intermédiaires logiques. Il faut noter, en effet, que, pour une réaction donnée, la nature du métal offre plus d'importance que le degré de son pouvoir adsorbant et que, d'autre part, les métaux considérés ici comme susceptibles de prendre l'hydrogène au courant gazeux et de le fixer sur les corps à transformer, se montrent ailleurs capables de prendre

l'hydrogène combiné aux corps qui en fournissent par dédoublement; leur « affinité » pour l'hydrogène paraît donc indéniable, malgré la fugacité de leur union avec lui. En un mot, si la haute importance de l'acte physique ne souffre pas la moindre contestation, l'acte chimique, tout masqué qu'il semble, ne saurait être tenu pour nul. Il existe du reste, chez les catalyseurs, une spécificité réelle et souvent flagrante (que nous avons déjà mentionnée); citons simplement, comme preuve, l'orientation différente que des catalyseurs variés sont capables d'imprimer, à la même température, à un même composé, *en système hétérogène* (Sabatier et Senderens).

N'est-il pas, au fond, tout naturel que la diversité extrême des phénomènes catalytiques reconnaisse pour cause les mille manières dont se combinent les effets de surface et les effets d'affinité?

Les catalyseurs, notamment les métaux réduits ou colloïdaux, ont leurs « poisons ». Ceux-ci agissent à dose minime, ce qui ne saurait étonner, car il suffit qu'ils déterminent, sur une épaisseur très faible, la formation de composés stables, pour transformer des surfaces actives en surfaces inertes.

D'autre part et plus généralement, le travail des catalyseurs se trouve toujours gêné, dans une mesure variable, par l'accumulation des produits engendrés; c'est l'histoire, bien connue, de l'équilibre entre les composés chimiques et les dérivés qui naissent de leurs transformations.

ANTIGÈNES

Substances de nature inconnue, caractérisées par le pouvoir de déterminer, chez les animaux (supérieurs, en général) auxquels on les administre, la production de substances de nature également inconnue, les anticorps, lesquels réagissent spécifiquement avec elles. Les antigènes comprennent : les diastases (ou enzymes), les toxines et certains constituants « indifférents » des cellules et humeurs, que l'on peut appeler *antigènes sans épithète*.

Diastases.

Elles jouent, on le sait, un rôle capital dans les transformations chimiques dont les organismes vivants sont normalement le siège. Par les diastases, s'opèrent de nombreuses « décompositions », très bien étudiées aujourd'hui et, certainement aussi, de nombreuses « recompositions » (synthèses), dont nous ne dirons qu'un mot, car leur histoire appartient à l'avenir. En pathologie, le rôle des diastases apparaît non moins important, quoiqu'il semble généralement ignoré. On le reconnaît facilement, quand on examine les maladies des animaux et des plantes que déterminent les parasites de toute nature et de toute dimension. C'est par leurs enzymes que ces parasites peuvent spolier les hôtes envahis. C'est par eux qu'ils disloquent les tissus (que leurs toxines ont préalablement nécrosés), engendrant ainsi les « pourritures » sèches ou humides (qui succèdent aux escarres sèches ou humides). Nous employons volontairement le mot pourriture, au lieu du mot gangrène, car ce dernier n'exprime que la pourriture des tissus animaux, accompagnée de mauvaise odeur. C'est encore par les enzymes que l'économie prépare la résorption des exsudats et des éléments détruits; que les microbes, une fois morts, sont digérés ; en un mot, que les êtres vivants se débarrassent de ce que Sydenham appelait, si heureusement, les « hétérogènes ». (On montrera, plus loin, le rôle des « ferments » protéolytiques dans les phénomènes d'hypersensibilité.) Enfin, les modifications qualitatives et quantitatives des diastases rendent compte de nombreux troubles de la nutrition.

Pour bien concevoir les enzymes, il faut les envisager, successivement, comme colloïdes, comme catalyseurs et comme antigènes, car ils offrent ces trois aspects caractéristiques.

Comme *colloïdes*, les diastases se composent de micelles, comprenant, naturellement, un bloc inerte et une partie active. C'est la partie active qui détient, de toute évidence, le rôle chimique. Ainsi, l'expérience suggère que, chez la laccase, le manganèse (soit à l'état d'hydrate, soit à l'état de sel manganeux) représente l'agent oxydant propre (G. Bertrand).

Comme *catalyseurs*, les enzymes montrent la plus grande

« perfection ». Grâce à leur surface étendue, ils condensent énergiquement les substances qui doivent être transformées ; celles-ci entrent en conflit avec les ions ramassés au voisinage de cette surface et les réactions intermédiaires, dont nous avons parlé, s'opèrent ainsi dans des conditions physiques exceptionnellement favorables à la genèse et à la destruction successives (non moins que rapides) de composés transitoires.

Les diastases attaquent, avons-nous dit, les substances les plus variées. Leur travail est gêné par l'accumulation des produits engendrés, ainsi que le prouve l'influence opposée de l'addition et de la soustraction de ces produits. Il est donc naturel de se représenter, ici, des réactions limitées par des réactions inverses. Un enzyme jouirait alors, en quelque sorte, de deux propriétés antagonistes et, dans l'organisme, ce sont les diastases qui présideraient aux équilibres chimiques, inséparables de la vie. Certains auteurs, Croft Hill et Pottevin les premiers, semblent avoir observé des phénomènes synthétiques d'origine diastasique, mais sans isoler les composés formés. Il a fallu la longue série des travaux de Bourquelot et Bridel, pour élucider complètement la question. Avec l'émulsine, ces savants ont obtenu nombre de β glucosides artificiels, correspondant à des alcools très divers ; avec un enzyme de la levure basse, nombre d'α glucosides. Ils ont préparé aussi des galactosides (toujours artificiels). De tels corps sont régulièrement hydrolysés par les enzymes qui les engendrent : c'est affaire de titre alcoolique du milieu ; plus ce titre est élevé, plus on « va » vers la synthèse, plus il est bas, vers l'hydrolyse. Les deux effets ont la même vitesse et s'arrêtent simultanément. Comme les catalyseurs (il serait mieux de dire, maintenant, comme *tous* les catalyseurs), les diastases ont leurs « poisons », d'ailleurs souvent les mêmes, ce qui montre que la partie active doit être souvent identique ou tout au moins analogue. De fait, les enzymes représentent sans doute fréquemment des dérivés organo-métalliques (ou métalloïdiques).

Comme *antigènes*, enfin, les diastases se montrent susceptibles d'engendrer des anti-enzymes spécifiques, chez les animaux auxquels on les administre. L'élément antigène (et inefficace) correspond au bloc inerte du colloïde, la partie active de celui-ci étant, elle, non antigène.

Les diastases offrent donc une *double spécificité* : par rapport aux substances qu'elles transforment et par rapport aux anticorps dont elles déterminent la production. La première spécificité, c'est-à-dire le fait qu'une diastase donnée n'agit que sur un composé donné (ou une famille de composés, offrant entre eux certaines analogies de constitution), spécificité symbolisée par E. Fischer dans sa comparaison connue de la clef et de la serrure, dépend certainement de la nature de la partie active. La seconde, c'est-à-dire le fait qu'une diastase n'est « neutralisée » que par l'anticorps homologue, dépend non moins certainement de la nature du bloc inerte. Launoy a démontré, rappelons-le, que les enzymes gélatinolytiques du *bacillus prodigiosus*, du bacille pyocyanique, du *proteus*, du vibrion cholérique, qu'on ne saurait distinguer dans leurs effets, se différencient aisément par l'action des anti-enzymes obtenus chez le lapin.

Toxines.

Poisons spéciaux et très répandus, sécrétés par les cellules animales, végétales et microbiennes. Leurs effets varient à l'infini. L'étude anatomo-clinique nous a permis de classer, chez les vertébrés supérieurs, toutes les toxines connues en trois groupes, suivant qu'elles ne provoquent aucun trouble local (du côté des parties molles) : neuro-toxines — ou qu'elles y engendrent des altérations nécrotiques : toxines donnant l'escarre humide (de beaucoup les plus répandues) et toxines donnant l'escarre sèche (ricine, abrine, crotine, poison diphtérique, uniquement). Nous avons aussi vérifié que certaines ne se manifestent qu'après un « temps mort » (poisons tétanique et botulique, toxines à escarre sèche), tandis que les autres (sans exception) peuvent tuer très rapidement, surtout si elles pénètrent d'emblée dans la circulation (venins de colubridés, toxines à escarre humide). Tous ces poisons agissent sur les cellules en déterminant une série de lésions, dont la nécrose constitue l'aboutissant trop fréquent; ils agissent aussi, éventuellement, sur les humeurs (coagulation du sang).

Les toxines dont nous venons de parler sont généralement nommées « solubles » (filtrats bactériens, venins et extraits

cellulaires) ; il est donc permis d'appeler, comme nous l'avons fait ailleurs, « solides », celles qui demeurent encore contenues dans les éléments où elles ont pris naissance. Lorsque ces dernières (pratiquement, cellules ; le plus souvent, bactéries, vivantes ou mortes) sont injectées à un animal, la masse restant minime et l'activité modérée, des altérations nouvelles apparaissent *loco læso*, dues à la diffusion de plus en plus lente du poison ; ces altérations sont, par ordre d'intensité décroissante : le bourbillon, l'abcès et le granulome. Nous avons établi nettement que la même toxine, suivant qu'elle se présente à l'état « soluble » ou « solide », détermine, ici, les lésions dont il vient d'être parlé, là, l'empoisonnement général, avec éventuellement escarre au point injecté.

Quand, des animaux supérieurs, nous passons brusquement aux plantes, nous retrouvons, comme signature fréquente des poisons parasitaires, la nécrose sèche et la nécrose humide. Nous ne retrouvons, et pour cause, rien qui rappelle l'ingérence de neurotoxines. Par contre, un effet, extrêmement fréquent, saute immédiatement aux yeux : l'effet cécidogène. Des organismes de toute nature peuvent déterminer, on le sait, chez les végétaux, le développement de productions qui traduisent l'hypertrophie, la multiplication et souvent une différenciation très marquée des éléments anatomiques. En vertu de quel mécanisme naissent les galles (ou cécidies) ? Comme réponse à la sécrétion d'un « venin » (d'une toxine), selon la vue géniale de Malpighi. Rien n'oblige à distinguer les poisons « malpighiens » (cécidogènes) des poisons « ordinaires » (nécrosants). On conçoit, en effet, que le même poison qui, émis brutalement et abondamment, va déterminer la mortification des tissus, provoque au contraire leur hypertrophie et leur hyperplasie, s'il se trouve sécrété lentement et à faible concentration. — Il conviendra de rechercher, chez les animaux, l'action « formative » des toxines. On sait déjà qu'elles peuvent engendrer des effets de nature inflammatoire ; elles doivent aussi intervenir dans la genèse des productions néoplasiques, mais la preuve directe fait défaut.

Les toxines semblent s'opposer aux diastases par bien des caractères. Tandis, pensera-t-on, que celles-ci n'agissent que sur les composés inorganisés (minéraux et organiques) et mani-

festent nettement leurs propriétés *in vitro* — ce qui permet de se faire une idée assez complète du mécanisme chimique — celles-là n'agissent que sur la substance vivante. En réalité, toxines et enzymes forment une série continue. Aux deux bouts de la série, la distinction est facile, les enzymes apparaissant bien comme les diastases de la matière inorganisée, les toxines comme les diastases de la matière organisée — mais au milieu de la série... Dira-t-on que la papaïne est un enzyme ? Elle attaque bien, *in vitro*, les humeurs et les cellules, mais elle détermine aussi l'escarre humide, quand on l'injecte sous la peau et elle tue, dans les veines, à la manière des venins des vipéridés ! Dira-t-on que le poison du crotale est une toxine ? Il attaque, *in vitro*, les humeurs et les cellules ! Nous avons donc uniquement l'impression de toxines types, en présence de poisons inactifs « dans le verre » et d'enzymes types, en présence de diastases inoffensives « dans le vif » ; nous ne pouvons opposer que des cas extrêmes. On conçoit alors que l'histoire des enzymes éclaire singulièrement celle des toxines, ainsi que nous espérons le montrer.

Les toxines sont considérées par tout le monde comme des *colloïdes*. Il est donc naturel de voir, dans la partie active de ces colloïdes, l'agent auquel on doit attribuer, en fin de compte, les effets observés.

Par analogie avec les diastases, on considérera également les toxines comme des *catalyseurs*. Le fait que certains de ces poisons tuent sous une masse infime pourrait être invoqué à l'appui de cette idée, mais notre comparaison générale nous semble avoir infiniment plus de valeur.

Il est superflu d'insister sur la *propriété antigène* des toxines; l'élément antigène (et inefficace) correspond, évidemment, au bloc inerte du colloïde.

Les toxines offrent donc, elles aussi, une *double spécificité*. La première ou le fait qu'un poison donné n'agit que sur des composés soit « semblables », soit « parents », ne semble pas douteuse, mais ne peut se démontrer directement; elle dépend, certainement, de la nature de la partie active. La seconde ou le fait qu'un poison n'est « neutralisé » que par le sérum homologue, ressort d'expériences innombrables; elle dépend, non moins certainement, de la nature du bloc inerte. L'expé-

rimentation nous avait montré, depuis longtemps, que les toxines comprennent deux éléments distincts, l'un actif et non antigène, l'autre passif et antigène. Envisageons au hasard, disions-nous, soit les venins des vipéridés, soit ceux des colubridés, soit encore le groupe abrine, ricine, crotine, poison diphtérique; pour chaque série, les effets *in vivo* se révèlent identiques, tandis que, pour chaque représentant de la série, l'action du sérum demeure rigoureusement élective. C'est à la suite de telles constatations que nous avons prié notre ami Launoy de rechercher si, comme tout le faisait présumer, la même loi ne régissait pas le monde des enzymes. On a vu qu'il en était bien ainsi.

Antigènes « indifférents ».

Toute humeur et toute cellule renferment, en nombre inconnu, certains constituants, que l'on considère habituellement comme *colloïdes* et qui provoquent, chez les animaux auxquels ils sont administrés, la genèse d'anticorps spécifiques. Dans la règle, l'un de ces *antigènes* apparaît dominant et engendre un anticorps également dominant. La variété des éléments « indifférents » dont nous parlons, bien que très grande, n'est sans doute pas indéfinie et ils doivent être considérés comme répartis, chez les deux règnes, sous forme de combinaisons très diverses. Ces antigènes sont, ainsi que leur nom l'indique, dénués d'efficacité, *in vitro* et *in vivo*. Ici, la partie active du colloïde existe bien, mais ne jouit point du pouvoir d'attaquer la matière, soit morte, soit vivante. Pourquoi? Parce que les ions de cette partie active se montrent incapables de jouer le rôle de *catalyseurs*, contrairement à ce qu'on observe avec les enzymes (et, certainement aussi, avec les toxines). Les antigènes sans épithète ne se manifestent que par leur élément passif (le bloc inerte du colloïde), dont l'électivité est mise journellement à profit, pour le diagnostic des maladies infectieuses et leur traitement bactériothérapique. Ils n'ont également qu'une *simple spécificité* (appréciable), celle qui caractérise leur réaction avec les sérums correspondants. Notons que, dans les protéiques cristallisés, l'antigène existe à l'état de molécules indépendantes; c'est un composé chimique

« ordinaire ». Mais, dès que ces protéiques reprennent la forme colloïdale, l'antigène redevient le bloc inerte, uni aux électrolytes, que nous savons.

Quelle peut donc être la structure chimique des divers antigènes? D'une façon certaine, on ne le sait pas (aussi les avons-nous définis « substances de nature inconnue »). Toutefois, s'en tirer par la négation pure et simple serait exagéré ; il faut poser « carrément » le problème. Les « indifférents » paraissent se confondre avec les matières protéiques des cellules et humeurs. Alors, pourquoi certaines de ces matières sont-elles antigènes et d'autres pas ? On a donné, là-dessus, peu d'explications jusqu'ici et des explications peu satisfaisantes. Mais les « indifférents » ne sont-ils point simplement *liés* aux protéiques? La chose est évidemment possible ; cependant, cette complication ne ressort d'aucune expérience et nos propres recherches nous conduisent à la rejeter actuellement. Même question, pour les toxines et enzymes, plus embarrassante peut-être. Même réponse encore, d'après nous. Les toxines et enzymes nous apparaissent donc (actuellement) comme des colloïdes protéiques, caractérisés par la nature de leur partie active, qui provoque des effets catalytiques soit *in vivo*, soit *in vitro*.

En dehors d'un certain nombre de colloïdes protéiques, efficaces ou « indifférents », on ne connaît actuellement aucune substance douée du pouvoir antigène — il faut insister sur ce point.

ANTICORPS

Commençons par résumer brièvement leurs effets. Chaque antigène peut engendrer *un* anticorps spécifique (pour l'unicité des anticorps, voir l'appendice). Anticorps et antigènes se fixent spécifiquement les uns sur les autres ; cette fixation se traduit (lorsque les proportions des deux substances sont convenables et en présence des électrolytes) par les phénomènes de l'agglutination ou de la précipitation, selon que les antigènes offrent la forme de cellules ou de micelles. Nous appelons coagulation (*largo sensu*) une telle réunion d'éléments, jusqu'alors disséminés

au sein des liquides et, de fait, l'agglutination correspond simplement à la précipitation mutuelle des protéiques cellulaires superficiels et des anticorps homologues. Telle est l'apparence *in vitro*. *In vivo*, les complexes antigènes-anticorps ne sauraient former de précipités visibles; les protéiques ambiants empêchent, en effet, leurs particules de s'agglomérer assez pour cela. L'interaction ne s'en produit pas moins. Elle se manifeste par la baisse d'activité des sérums, chez les animaux immunisés, après chaque réinjection de l'antigène. Dans le cas des toxines, il s'y joint la neutralisation, bien connue, des effets nocifs. Dans le cas des cellules, humeurs ou enzymes (atoxiques), on ne remarque rien d'apparent, à moins que n'éclatent les accidents d'hypersensibilité, lesquels ressortissent aux actions lytiques. — Voici comment il faut concevoir ces dernières. Les *compléments* (substances de nature inconnue, présentes dans le sang frais et caractérisées par leur action si curieuse) se fixent sur les systèmes antigènes-anticorps, puis les « décoagulent ». La décoagulation (plus ou moins gênée, quand la coagulation antérieure va trop loin) ne consiste pas en un simple retour au *statu quo ante*, mais bien en une véritable dislocation, ainsi que le montrent les aspects, observés *in vitro* avec certains test-objets favorables (hématies, quelques bactéries) et leur absence, au moins apparente, quand il s'agit d'antigènes « durs » (noyaux des hématies, majorité des bactéries). *In vivo*, cytolyse, protéolyse et toxinolyse se révèlent, lorsqu'elles sont brutales et étendues, par les symptômes classiques de l'hypersensibilité; dans le cas contraire, on peut reconnaître la cytolyse, s'il s'agit de microbes virulents, au phénomène de la résistance spécifique, traduisant une destruction silencieuse. L'apparition de l'hémoglobinurie, chez les animaux « immunisés » contre les globules rouges étrangers et recevant de nouveau ces cellules, établit, sans conteste, la réalité de l'acte lytique *in vivo*. Il nous semble évident que les systèmes antigènes-anticorps, une fois décoagulés dans l'organisme, deviennent, ainsi que les compléments qui les accompagnent, la « proie » des enzymes albuminolytiques présents, lesquels les digèrent peu à peu.

Il faut, maintenant, tâcher de nous figurer les anticorps (et leurs effets) en nous aidant de toutes les notions classiques et

de nos recherches propres. Rappelons que chacun considère ces agents comme des colloïdes. Ils apparaissent liés au groupe des globulines, dans les sérums qui les contiennent ; s'agit-il d'une simple union (de nature d'ailleurs indéterminée) ou bien les anticorps ne sont-ils que des globulines « différenciées » ? Cette dernière opinion, plus simple et moins mystérieuse, semble (actuellement) la meilleure. Nous avons indiqué, jadis, qu'*in vitro* et *in vivo* l'action des anticorps (aidés des électrolytes et des compléments) rappelle, sous certains rapports, celle des enzymes et toxines ; qu'ils représentent, si l'on veut, des enzymes et toxines d'un ordre « supérieur ». Nous avons également fourni des documents probants pour l'histoire des anti-anticorps. Il nous paraît donc que l'on peut attribuer, sans exagération, aux anticorps une structure analogue, *grosso modo*, à celle des enzymes et toxines.

Peut-on concevoir, assez nettement, la fixation mutuelle des antigènes et des anticorps ? Oui, si l'on compare le résultat des faits expérimentaux avec les données qui concernent l'interaction des colloïdes ; cette comparaison mène, selon nous, aux idées suivantes. Lorsque les substances mentionnées se trouvent en proportion optima, rien n'empêche d'attribuer la coagulation à une simple combinaison d'ions. Mais nous savons que, dans bien des cas, l'anticorps est capable de fixer un excès d'antigène (exemple : le phénomène d'Ehrlich) et réciproquement ; on reconnaîtra là des effets typiques d'adsorption. Nous savons aussi, que, si l'on ajoute en deux fois l'antigène à la quantité convenable (convenable en une fois) d'anticorps, l'union demeure incomplète, d'autant plus incomplète que l'intervalle entre les deux additions se prolonge davantage (phénomène de Bordet) ; il ne saurait s'agir, alors, que d'une contraction du mélange, diminuant la surface active de l'anticorps et déterminée par la première addition. Ainsi donc, comme nous l'avons montré antérieurement, dans le monde des colloïdes, les actions de surface se superposent fréquemment aux effets d'affinité ; d'où complexité indéniable, mais pas le moindre mystère. — Mêmes réflexions, pour ce qui regarde la fixation des compléments sur les systèmes antigènes-anticorps ; on a l'impression que l'adsorption joue ici un rôle encore plus marqué (*a fortiori*, dans la « conglutination », quand le système

antigène-anticorps, chargé de complément, s'adjoint en outre les matières protéiques du sérum bovin, qui le précipitent énergiquement).

Essayons, à présent, de concevoir le mode d'action des compléments et la nature de ces substances, singulières mais non spécifiques. Nous les considérons, pour notre part, comme des colloïdes aux micelles très petites, qui disséminent les grosses micelles « antigènes-anticorps », les isolant entre elles et les séparant des autres constituants des cellules et humeurs. C'est cette dislocation qui constitue la lyse (décoagulation), rarement totale *in vitro*, toujours totale, le moment venu, *in vivo*, où anticorps et compléments se renouvellent incessamment. Nous pensons aussi que les compléments se confondent avec certaines matières protéiques du sang; que ce ne sont pas des catalyseurs; qu'ils ne jouissent d'aucune propriété antigène, *en tant que compléments*. Leur caractère essentiel, sinon unique, réside dans la petitesse des micelles; dès que celles-ci grossissent, par chauffage ou vieillissement, la propriété complémentaire s'évanouit et il ne reste qu'un protéique « indifférent », de l'espèce que nous connaissons. On n'a pas ici la prétention d'avoir totalement élucidé la question, si difficile, qui nous occupe, mais on espère l'avoir clairement posée. Quant aux expériences dans lesquelles les auteurs coupent les compléments en deux (voire en trois), expériences sur lesquelles il y aurait, du reste, fort à dire, elles ont obscurci jusqu'ici le problème au lieu de l'éclairer. Nous les examinerons plus tard et ailleurs.

On a dit, au début de ce travail, que l'on se proposait d'y aborder les points les plus ardus de l'histoire des antigènes et des anticorps. Il nous faut donc continuer à définir les problèmes essentiels et à chercher dans quelle voie des solutions peuvent être trouvées. D'abord, en quel lieu et comment se forment les anticorps (nous parlons toujours des anticorps « artificiels », chez les animaux supérieurs, infectés ou immunisés)? On l'ignore encore actuellement et, ce qui contribue à entretenir cette ignorance, c'est qu'on ne voit pas le moyen de distinguer nettement les endroits où s'élaborent les substances « protectrices » et ceux où elles se déposent, la répartition étant la même chez les sujets « activement » et « passive-

ment » immunisés. Toutefois, un fait nous a constamment frappés : l'importance énorme et trop méconnue des endothéliums vasculaires, pour la vie normale et pathologique; nous avons abordé, incidemment, un côté de cette question, dans notre livre sur les toxines et les antitoxines; il y aurait intérêt à reprendre les recherches anciennes (et très incomplètes) de Chantemesse, qui voyait, dans ces endothéliums, les cellules productrices d'anticorps. Elles sont, tout au moins, des cellules « dépositaires », sans quoi on ne comprendrait guère, chez les animaux traités, l'hypersensibilité d'organes isolés et préalablement lavés avec l'eau physiologique. Quoi qu'il en soit, il convient de rejeter absolument l'hypothèse de la création *ex nihilo* des anticorps « artificiels »; ceux-ci ne peuvent que succéder aux anticorps « naturels », qui « ont raison » des antigènes, lors de l'infection ou de la vaccination; nous allons y revenir bientôt.

L'étude des anticorps, en dehors des animaux supérieurs, demeure encore peu avancée; les travaux de Cantacuzène ont cependant établi l'existence des deux types, normaux et artificiels, chez plusieurs invertébrés. D'autre part, les recherches de N. Bernard et de Magrou imposent la conviction que les végétaux doivent, eux aussi, engendrer des anticorps. Le pelotonnement intracellulaire des filaments mycéliens parasites, suivi de leur dissolution, a été comparé, par les deux auteurs, au phénomène agglutinant, que suit l'acte lytique et nous nous sommes trouvés d'accord avec eux dès leurs premières expériences. Nous pensons que la fonction « antipoïétique » (comme nous l'appelons depuis longtemps) se rencontre chez *toutes* les cellules, bien que dominant de plus en plus chez certains éléments anatomiques (mais lesquels?), à mesure que les êtres se montrent plus évolués. Dans le travail de l'un de nous sur l'autolyse, on notera déjà l'idée que les anticorps jouent un rôle très important, au cours du fonctionnement cellulaire normal.

Ceci nous ramène aux anticorps normaux (ou naturels). C'est grâce à eux, répétons-le, que les antigènes sont détruits chez les sujets neufs; une telle destruction suppose que ces agents ont, comme nous l'avons indiqué jadis, un caractère « aspécifique » et « multispécifique ». Le conflit, entre les antigènes et

eux, détermine leur hyperproduction; il détermine également, si l'on peut dire, leur « polarisation », puisque les anticorps artificiels apparaissent hautement spécifiques. (Ici devraient se placer des réflexions sur la spécificité, mais, pour aboutir à quelques vues peut-être nouvelles, un trop long détour serait nécessaire).

La question des anticorps normaux nous conduit à l'immunité naturelle. Il convient de penser que celle-ci, de même que l'immunité acquise, traduit une action d'anticorps. L'insensibilité de certains animaux, au regard de tel ou tel antigène, correspond ainsi à la différenciation, sous d'obscures influences, d'une partie des anticorps normaux. Mais, comment expliquer l'absence habituelle de ces anticorps « spécifiques normaux » dans le sérum des sujets réfractaires? Comment concevoir alors le mécanisme de la résistance? En allant du connu vers l'inconnu, de façon méthodique. — L'existence des anticorps a été établie, ne l'oublions pas, par l'étude des humeurs des animaux infectés et surtout immunisés, chez lesquels la destruction d'un excès, parfois *énorme*, d'antigène, engendre une surabondance de ces anticorps. Poursuivons l'examen systématique du sérum, après guérison ou arrêt de l'immunisation; nous verrons les anticorps diminuer progressivement, puis s'évanouir en apparence. Nous disons « en apparence », car il ne faut incriminer ici que l'imperfection de nos méthodes, dont chaque progrès retarde le moment de la soi-disant disparition. En réalité, la fonction antipoïétique spécifique persiste fort longtemps, aussi longtemps que l'immunité acquise, dont elle constitue le « support ». Lorsque l'on réinjecte l'antigène homologue, celui-ci rencontre donc une certaine quantité d'anticorps circulant (inappréciable avec nos techniques actuelles), qu'il « concentre » sur lui; d'où rupture d'équilibre et production d'une nouvelle quantité, supérieure à la première, comme le veut la loi d'accélération. Et ainsi de suite. Cette manière logique d'expliquer la résistance acquise, en l'absence *apparente* d'anticorps dans les humeurs, sera certainement admise sans difficulté. Nous n'hésitons pas à la transposer dans le domaine de l'immunité naturelle, dont elle fournit, seule, une interprétation simple et claire.

RÉACTIONS VOISINES DES RÉACTIONS ANTIGÈNES-ANTICORPS

Nous n'en mentionnerons que deux types : l'un, représenté par certaines sortes d'hypersensibilité, observées chez l'homme, le second, par les phénomènes dus aux « anaphylotoxines ».

Hypersensibilités observées chez l'homme.

Elles ne sont pas rares (en dehors de la maladie sérique). Dans les unes, la substance nocive est incontestablement antigène; exemple : la fièvre des foins. Ailleurs, sa nature exacte demeure encore inconnue; exemple : différents types d'asthme. Le dernier groupe de cas (le seul qui nous intéresse) concerne la susceptibilité envers les dérivés chimiques, les médicaments surtout. Ici, on ne saurait, comme en premier lieu, incriminer les réactions d'anticorps; tout conduit à suspecter la surproduction (ou l'efficacité anormale) de certains enzymes. D'autant que l'état singulier dont nous parlons est habituellement héréditaire (Cooke), comme beaucoup de troubles généraux, qui semblent bien sous la dépendance d'anomalies qualitatives et quantitatives du système « fermentaire » de l'économie. Nous avons noté, précédemment, que les anticorps représentaient, en quelque sorte, des diastases (ou toxines) d'un ordre « supérieur »; cela revient à dire qu'inversement, les enzymes peuvent déterminer, avec les composés non antigènes, des effets comparables aux effets que les anticorps produisent avec les substances antigènes. Telle est la conception la plus simple des hypersensibilités dont il s'agit. Toutefois, nous devons ajouter que l'un de nous n'a jamais pu sensibiliser les animaux aux glucosides (amygdaline, arbutine, salicine); les essais, répétés, ont duré plus de six mois. Fait curieux, le même expérimentateur (M. N.), dans des recherches inédites sur le sommeil électrique du lapin (travaux entrepris avec Jouan et Mouton), s'est aperçu que des doses d'arbutine, totalement inoffensives chez les animaux éveillés, devenaient toxiques chez les sujets

endormis; le glucoside se trouvait alors décomposé *in vivo* et provoquait l'empoisonnement typique par l'hydroquinone.

Anaphylotoxines.

Voici ce dont il s'agit. Quand on fait digérer du sérum frais (de cobaye généralement) avec certains colloïdes ou certaines suspensions fines — en s'aidant, soit de l'agitation, soit de l'élévation thermique — on constate qu'après un temps suffisant le sérum, débarrassé de l'élément ajouté (centrifugation, filtration), injecté dans les veines, tue l'animal (cobaye, généralement). Les symptômes observés sont ceux de l'hypersensibilité; ils révèlent la naissance d'un poison, aux dépens du sérum. Comment concevoir le phénomène? Pour Jobling et Petersen, le colloïde ou la suspension adsorbent les substances antitryptiques du sérum (acides gras non saturés et leurs combinaisons lipoïdiques). Celui-ci s'autodigère alors, grâce à ses ferments protéolytiques, dont rien n'entrave plus l'activité et l'autodigestion engendre les dérivés toxiques indiqués par l'expérience. On peut « dénuder » également le sérum, soit en dissolvant les acides gras (éther, chloroforme), soit en les saturant (iode); inversement, on rend le sérum « dénudé » inoffensif, en lui restituant ces acides sous forme de savons. Les faits précédents semblent bien établis, mais ils demeurent insuffisants pour fournir toute l'explication cherchée. D'après Bordet et Zunz, le colloïde ou la suspension adsorbent non seulement les « substances antagonistes », mais encore le complément et les enzymes du sérum, d'où l'apparition d'un précipité révélateur; les matières protéiques de ce sérum se trouvent ensuite désintégrées par les diastases albuminolytiques, ainsi que le montre l'analyse chimique. Telles sont les deux opinions qui nous paraissent les plus intéressantes sur la question; que faut-il conclure, pour avoir une vue complète? « L'adsorbant » joue, évidemment, un rôle essentiel; il disloque le sérum, fixant, selon nous, certains de ses constituants protéiques et pas seulement les éléments gras; au complexe « adsorbant-protéique » vient s'adjoindre le complément, qui en dissémine les particules; après quoi celles-ci sont attaquées (dans leur partie albumineuse) par les enzymes appropriés.

Les recherches *in vivo* confirment les recherches *in vitro*; lorsque l'on injecte, par la voie sanguine, certains colloïdes ou certaines suspensions, les animaux succombent fréquemment, offrant des troubles rapides du « type hypersensibilité ». Faut-il conséquemment penser que, dans le cas d'hypersensibilité vraie, le poison causal dérive non de l'antigène (dont la lyse ne saurait cependant être discutée), mais du plasma même des sujets? A bien réfléchir, il est assez difficile d'admettre que l'antigène constitue la source, au moins unique, des substances toxiques formées et nous incriminons, depuis pas mal de temps, le complexe antigène-anticorps tout entier, chez lequel, ainsi que nous l'avons mentionné expressément, l'anticorps représente la portion dominante (d'autant qu'il entraîne avec lui beaucoup de globulines du sérum — globulines sans doute banales). Cette manière de voir explique suffisamment l'hypersensibilité générale et l'hypersensibilité locale; elle explique, *seule*, l'hypersensibilité des organes isolés et lavés. Donc, l'origine des produits nuisibles doit être cherchée, principalement, dans une lyse des globulines. On comprend, alors, que l'hypersensibilité passive (découverte par l'un de nous) soit plus difficile à réaliser que l'active; pour cette dernière, en effet, la source du poison apparaît infiniment plus abondante que pour l'autre. Il nous semble évident que le complément, fixé par le complexe antigène-anticorps, se trouve digéré en même temps que celui-ci.

L'étude des « fausses hypersensibilités » dont nous parlons offre une grande importance. Elle éclaire celle de l'hypersensibilité vraie, en ce qui concerne notamment le rôle respectif du complément et des enzymes protéolytiques; elle relie l'histoire du shock, dit « anaphylactique », avec celle du shock propeptonique (nous ne pouvons, malheureusement, insister sur ce point); enfin, elle fournit une base scientifique à l'emploi thérapeutique des injections intraveineuses de colloïdes (métaux colloïdaux surtout). Dans ce dernier cas, on se propose, au fond, par des moyens brutaux, de « liquider » rapidement, sous forme de crise salutaire, des accidents qui ne sauraient se prolonger sans dommage pour le malade. C'est ce que les Anciens appelaient, très exactement, faire de la médication perturbatrice.

Comme nous le voyons, divers colloïdes et suspensions coagulent, *in vivo*, certains constituants du plasma, que décoagulent ensuite les compléments et que digèrent les enzymes protéolytiques. Toutes les substances, qui déterminent la coagulation du sang (*in vivo*), pourront donc sans doute tuer les animaux, avec des symptômes plus ou moins voisins de ceux que montrent (lors de l'épreuve) les individus hypersusceptibles; c'est ce que semblent prouver les expériences (injection de toxines à escarre humide, d'extraits d'organes, de sels métalliques, de tannin, etc.). Il faudrait, cependant, étudier chacun de ces cas séparément, avant de poser des conclusions fermes et cela sortirait des limites de notre sujet.

APPENDICE — UNICITÉ DES ANTICORPS

Les anticorps se caractérisent, objectivement, par leurs effets. Comme ceux-ci sont, en apparence, fort divers, les auteurs ont distingué, pour chaque antigène, autant d'anticorps que d'effets observés. L'un de nous a soutenu, jadis, une conception plus simple, basée sur des recherches entreprises avec Abt et Pozerski. Observant que les antigènes ne sont modifiés par les anticorps que dans deux sens opposés, coagulation et décoagulation, il a divisé les anticorps en coagulines et lysines; les coagulines comprenant : les agglutinines, les précipitines et les antitoxines; les lysines comprenant : les cytolysines, les sensibilisatrices de Gengou (décelables, par la méthode de Bordet-Gengou, dans le sérum des animaux qui ont reçu des humeurs étrangères) et les toxinolysines (décelables, par le même procédé, chez les sujets hypersensibles aux toxines).

Avouons que notre conception ne nous a jamais pleinement satisfaits et que, depuis des années, nous nous sommes efforcés d'expliquer les deux effets indiqués (coagulation et décoagulation), en ne faisant intervenir qu'*un seul anticorps pour chaque antigène*. Cette nouvelle manière de voir s'étant enfin précisée dans notre esprit, grâce à l'accumulation des preuves nécessaires, nous l'adopterons désormais. On peut la résumer en deux mots : tout antigène provoque, chez l'animal qui le reçoit, la formation d'*un* anticorps spécifique; l'anticorps se

fixe sur l'antigène et le coagule plus ou moins énergiquement; tout se borne là, en l'absence des compléments; en leur présence, la décoagulation succède à la coagulation, mais cette décoagulation demeurera d'autant moins complète que la coagulation antécédente se sera montrée plus énergique.

Pour légitimer notre nouvelle manière de voir, faisons remarquer que, par lui-même, un anticorps ne détermine ni action coagulante ni action décoagulante, mais permet simplement aux électrolytes d'exercer la première et aux compléments de réaliser la seconde. Notons ensuite que les sérums, susceptibles d'agglutiner ou de précipiter les antigènes, se révèlent souvent immunisants ou hypersensibilisants *in vivo* et toujours « fixateurs » *in vitro* et, qu'inversement, les sérums immunisants, hypersensibilisants et fixateurs, agglutinent ou précipitent dans la majorité des cas. On peut donc admettre, sans crainte de se tromper, que tout sérum jouit des deux propriétés, coagulante et décoagulante. Mais alors, pourquoi ces deux propriétés, loin d'offrir entre elles des relations obligées, affectent-elles si souvent des allures indépendantes; pourquoi l'une ou l'autre apparaît-elle si souvent dominante et même isolée? L'étude systématique du sérum de *très nombreux chevaux*, immunisés avec des antigènes fort variés (1), nous permet de répondre aujourd'hui à cette question, si embarrassante jusqu'alors. Chez les chevaux traités, le pouvoir lytique (apprécié le plus souvent par la réaction de Bordet-Gengou) apparaît d'ordinaire rapidement et atteint rapidement son maximum; il reste ensuite stationnaire ou décline (les animaux demeurant en bon état). Le pouvoir coagulant (apprécié le plus souvent par l'agglutination) se développe moins vite, mais d'une façon continue et peut atteindre des valeurs *énormes* avec certains antigènes. La baisse du pouvoir lytique, mentionnée tout à l'heure, coïncide régulièrement avec une hausse marquée et progressive du pouvoir coagulant. Rappelons, d'autre part, que les phénomènes d'hypersensibilité, communs dans les premiers temps de l'immunisation, ne sont

(1) M. Nicolle, V. Frasey, E. Debains et E. Nicolas. Ces *Annales*, Mai 1920. Dans ce travail, on n'a publié qu'une partie des courbes des chevaux en question; pour établir notre conception actuelle, nous avons dépouillé les observations de *tous* les sujets immunisés.

plus guère à craindre chez les « vieux chevaux ». Ajoutons encore que les sérums antimicrobiens des vieux chevaux donnent souvent des résultats thérapeutiques médiocres, bien qu'ils agglutinent toujours aussi fortement; tandis que les sérums antitoxiques des vieux chevaux continuent d'ordinaire à posséder leur grand pouvoir curatif. Rapprochons ces faits, solidement établis et la conclusion suivante apparaîtra d'elle-même : l'anticorps (unique) se développe de plus en plus, tant que les circonstances le lui permettent; l'effet coagulant s'élève parallèlement; cet effet est inséparable de la formation du complexe antigène-anticorps, c'est-à-dire de la condition même de l'acte lytique; passé un certain point, il devient une cause de gêne croissante pour cet acte. Nous trouvons donc, dans l'évolution de l'anticorps, la raison fort simple de sa dualité d'action. Par conséquent, quand on se proposera d'obtenir des sérums très coagulants, il faudra pousser le plus loin possible l'immunisation; c'est le cas des sérums antitoxiques, agglutinants, précipitants. Quand on se proposera, au contraire, d'obtenir des sérums lytiques (ordinairement antimicrobiens), il faudra conduire l'immunisation moins aveuglément, surveiller toute élévation excessive du pouvoir agglutinant (ou précipitant) et, en présence d'une baisse correspondante du pouvoir lytique (même légère), laisser reposer les animaux pendant quelque temps.

RECHERCHES
SUR LES VARIATIONS DE LA TENEUR EN MANGANÈSE DES FEUILLES AVEC L'AGE

par Gabriel BERTRAND et Mme M. ROSENBLATT.

Les feuilles comptent parmi les organes végétaux les plus riches en manganèse, ainsi qu'il ressort des travaux de Pichard, de Passerini, de Jadin et Astruc, de ceux que nous avons nous-mêmes récemment publiés (1). Mais, tandis que Pichard semble admettre que les plus jeunes de ces organes sont ceux qui renferment le plus de métal, Jadin et Astruc émettent une opinion formellement opposée (2).

Or, si l'on se rappelle, d'une part, le rôle attribué au manganèse dans la constitution de la laccase et dans certains phénomènes oxydasiques, d'autre part, la richesse plus grande en laccase des jeunes feuilles que des vieilles (3), on est conduit à supposer que ce n'est pas chez ces dernières qu'il doit y avoir la plus haute teneur en manganèse, à moins qu'il intervienne dans l'enrichissement des feuilles en métal une raison physiologique nouvelle dont il serait alors intéressant de déterminer la nature.

Cette considération nous a engagé à examiner de très près les variations de la teneur en manganèse des feuilles avec l'âge.

Au lieu de doser le métal dans deux lots seulement de feuilles, jeunes et vieilles, comme cela avait paru suffisant à nos devanciers, nous avons opéré sur une série de feuilles, prises les unes à la suite des autres et au même moment sur les tiges. Dans quelques cas (fusain, troène), nous avons analysé comparativement des feuilles récoltées en été et en hiver. Pour le buis, nous avons, à la même époque, effectué deux séries parallèles de dosages, sur les feuilles d'arbrisseaux déve-

(1) Ces *Annales*, 1922, **36**, p. 230.
(2) *C. R. Acad. des Sciences*, 1913, **156**, p. 2023.
(3) G. Bertrand, *Bull. Soc. Chim.* (3e série), 1895, **13**, p. 1095.

loppés en deux endroits du jardin. Enfin, nous avons répété nos déterminations sur des espèces assez nombreuses et assez différentes, comprenant des plantes annuelles, bisannuelles et vivaces, herbacées et ligneuses, ces dernières à feuillage caduc ou persistant (1). Ces analyses nous ont montré que les variations de la teneur en manganèse des feuilles avec l'âge obéissaient à des règles plus compliquées que celles apparues d'abord, soit à Pichard, soit à Jadin et Astruc.

En rapportant les résultats obtenus à la matière fraîche et à la matière sèche de leurs feuilles, les plantes que nous avons examinées se partagent, en effet, en quatre groupes.

Il y en a, comme la betterave et l'aucuba, chez lesquelles la proportion de manganèse semble maxima dès le début du développement de la feuille; la proportion diminue ensuite peu à peu, presque jusqu'à la fin, où elle se relève légèrement.

Tableau I (2).

	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES	MANGAN. EN MILLIGRAMMES pour 100 grammes de MATIÈRE FRAICHE	MANGAN. EN MILLIGRAMMES pour 100 grammes de MATIÈRE SÈCHE	MANGAN. EN MILLIGRAMMES pour 100 grammes de CENDRES
Betterave (début de la floraison)	p. 100	p. 100			
Feuille n° 1 (0,5-1 centim. lg).	22,10	3,59	1,00	4,53	27,95
— 2 (3 —	20,70	3,00	0,67	3,24	22,42
— 3 (5 —	20,70	2,89	0,61	2,94	21,08
— 4 (8 —	19,06	2,32	0,52	2,74	22,40
— 5 (15 —	17,04	2,86	0,43	2,53	15,06
— 6 (20 —	13,56	2,72	0,46	3,44	17,09
Aucuba (hiver).					
Feuille n° 1	29,30	3,11	0,53	1,80	16,95
— 2	27,30	3,08	0,41	1,50	13,43
— 3	29,12	2,94	0,35	1,20	11,88
— 4	27,86	3.10	0,33	1,20	10,78
— 5	27,39	2,62	0,27	1,00	10,46
— 6	28,18	3,01	0,25	0,90	7,69
— 7	27,00	2,68	0,27	0,90	8,94

(1) Toutes les plantes examinées provenaient du jardin du laboratoire (à l'Institut Pasteur).

(2) Les feuilles sont numérotées dans les tableaux à partir des plus jeunes.

TABLEAU II.

	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES	MANGAN. EN MILLIGRAMMES pour 100 grammes de MATIÈRE FRAICHE	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES
Rose trémière (au début de la floraison).	p. 100	p. 100			
Feuilles nos 1-5 (2-4 cent. lg.).	20,37	3,16	1,18	5,78	37,33
— 6-8 (6-8 —	20,48	3,16	1,03	5,06	32,78
— 9-11 (9-10 —	20,43	3,13	0,81	3,97	25,90
— 12-13 (11,5 —	20,69	3,40	1,01	4,85	29,62
— 14-15 (14,0 —	17,73	3,17	1,02	5,71	32,00
Cytise (printemps).					
Feuille no 1 (2 —	26,57	3,53	1,63	6,13	46,10
— 2 (3-4 —	27,96	3,73	0,97	3,47	26,06
— 3 (4,5-5,5 —	26,66	3,18	1,30	4,87	40,81
— 4 (6-7 —	26,36	3,07	1,80	6,83	58,82
Lierre (été).					
Feuille no 1 (5 —	23,95	1,87	0,70	2,92	37,50
— 2 (1,5-5,5 —	29,77	2,57	0,64	2,15	24,91
— 3 (6,5-7 —	28,99	2,78	0,78	2,68	27,97
— 4 (9,0 —	39,87	4,79	1,50	3,77	31,39
Tabac des paysans (à la floraison)					
Feuille no 1	10,21	1,80	0,87	8,55	48,38
— 2	8,43	1,78	0,72	8,55	40,55
— 3	7,69	1,76	0,47	6,10	26,57
— 4	7,34	1,72	0,39	5,33	22,70
— 5	7,07	1,78	0,56	8,00	31,52
— 6	6,70	1,76	0,52	7,80	29,67
— 7	6,43	1,88	0,49	7,60	25,94
— 8	5,95	1,75	0,45	7,60	25,72
— 9	5,54	1,73	0,44	8,00	25,53
— 10	6,36	2,25	0,55	8,60	24,29
Iris (hiver).					
Feuille no 1	13,42	1,54	0,27	2,00	17,46
— 2	11,80	1,40	0,21	1,80	15,22
— 3	12,74	1,76	0,26	2.00	14,49
— 4	13,49	1,90	0,24	1,80	12,79
— 5	13,20	1,85	0,29	2,20	15,65
— 6	13,92	1,85	0,28	2,00	15,06
— 7	14,42	1,89	0,32	2,20	16,75

	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES	MANGAN. EN MILLIGRAMMES pour 100 grammes de MATIÈRE FRAICHE	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES
Buis (hiver).	p. 100	p. 100			
Feuille n° 1	40,29	3,74	2,00	4,93	53,12
— 2	40,20	3,29	1,78	4,47	54,18
— 3	39,06	3,49	1,74	4,47	50,08
— 4	38,88	3,34	1,75	4,51	52,40
— 5	38,30	3,41	1,61	4,21	47,22
— 6	38,86	3,39	1,65	4,26	48,95
— 7	40,46	4,35	1,48	3,67	34,22
— 8	39,60	4,23	1,48	3,75	35,09
— 9-10	39,00	4,06	1,42	3,63	34,90
— 11-12	38,67	4,16	2,14	5,55	51,44
Buis (hiver).					
Feuille n° 1	41,85	3,44	0,55	1,32	16,07
— 2	40,48	3,23	0,48	1,19	14,88
— 3	39,75	2,96	0,42	1,05	14,10
— 4	37,65	3,26	0,80	2,12	24,83
— 5	38,78	4,00	1,52	3,92	37,80
— 6	38,27	4,00	1,45	3,78	36,21
— 7	38,18	3,70	1,45	3,81	39,21
— 8	37,02	3,30	1,35	3,64	40,80
— 9-10	29,23	2,84	1,07	3,64	37,42
— 11-12	39,18	4,00	1,55	3,95	39,06
If commun (hiver).					
Feuilles n°s 1-2	33,63	2,88	2,64	7,89	91,66
— 3-4	32,77	2,98	2,30	7,01	78,04
— 5-6	32,63	2,98	2,12	6,50	71,11
— 7-8	32,59	2,92	1,77	5,42	60,50
— 9-10	32,17	2,90	1,74	5,43	60,19
— 15-16	31,76	2,83	1,95	6,18	61,68
— 20-21	31,29	2,78	1,62	5,88	58,16
— 25-26	31,00	2,78	1,36	4,39	48,90
— 30-31	30,95	2,71	1,75	5,65	64,51
— 35-36	30,74	2,77	1,85	6,32	66,78
— 40-41	32,18	2,89	1,98	6,15	68,48
— 45-46	33,26	2,98	2,14	6,44	71,98
— 50-51	32,49	3,01	1,95	6,00	64,70
— 55-56	33,17	3,10	2,12	6,40	68,32
— 60-91	32,31	2,66	1,75	5,43	66,00
— 65-66	30,94	2,96	1,74	5,63	58,70
— 70-71	32,82	3,06	2,00	6,14	65,71

TABLEAU III.

	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES	MANGAN. EN MILLIGRAMMES pour 100 grammes de		
			MATIÈRE		CENDRES
			FRAICHE	SÈCHE	
Fusain du Japon (hiver).	p. 100	p. 100			
Feuilles nos 1-2	25,64	2,30	0,82	3,20	35,75
— 3-4	26,75	2,25	0,85	3,18	37,77
— 5-6	27,50	3,00	1,00	3,65	33,30
— 7-8	29,25	3,57	1,00	3,42	27,97
— 9-10.	33,25	4,14	1,05	3,41	25,31
— 11-12.	31,00	4,99	1,05	3,16	21,01
— 13-14.	31,75	5,25	1,05	3,31	19,97
— 15-16.	31,75	5,92	1,05	3,31	17,72
— 17-18.	32,75	5,92	1,00	3,05	16,88
— 19-20.	33,50	6.56	1,00	2,99	15,23
— 21-22.	33,33	7,21	1,00	3,08	14,21
— 23-24.	32,59	6,63	1,23	3,41	16,76
— 25-26.	32,25	6,98	1,00	3,10	14,32
Fusain du Japon (été).					
Feuille 2 cent. lg.	22,17	2,12	0,32	1,43	14,95
— 3 —	24,65	2,56	0,39	1,57	15,03
— 4,05 —	26,66	3,85	0,34	1,25	8,66
— 6 —	32,04	4,54	0,26	0,80	5,68
Lilas (été).					
Feuille 2 cent. lg.	25,95	2,37	0,91	3,51	38,28
4 —	27,62	2,64	1,51	5,49	57,51
8 —	22,13	2,76	1,00	4,51	36,16
10 —	21,80	2,51	1,23	5,67	49,16
13 —	21,39	2,39	1,29	6,06	54,20
Marronnier rouge (été).					
Feuille 3-7 cent. lg.	26,56	2,67	1,40	5,29	52,33
— 7-8 —	25,53	2,67	1,69	6,65	63,60
— 8-10 —	26,41	2,57	1,37	5,18	53,19
— 10-16 —	29,52	3,00	1,38	4,70	46,16
Sureau (été).					
Feuille 1-2 —	17,72	1,56	0,70	1,97	44,87
4-7 —	16,43	1,65	0,70	4,26	42,42
8-12 —	16,60	2,05	0,86	1,72	41,95
Syringa (été).					
Feuille 1-2 —	23,18	2,65	0,90	3,68	33,93
2-3 —	22,76	2,74	0,93	4,10	34,07

	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES	MANGAN. EN MILLIGRAMMES pour 100 grammes de MATIÈRE FRAICHE	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES
Syringa (été) (*suite*).	p. 100	p. 100			
Feuille 4-5 cent. lg.	19,83	3,25	1,14	5,73	34,91
— 6-10 —	18,67	2,89	0,94	5,04	32,53
Troène (été).					
Feuille 1,5 —	24,05	1,84	1,50	6,23	81,52
— 3,0 —	24,78	1,66	2,50	10,09	150,60
— 7,0 —	22,95	1,80	2,00	18,71	111,11
Troène (hiver).					
Feuilles nos 1-2	27,00	2,84	1,50	5,55	52,72
— 3-4	25,00	3,37	1,75	7,00	51,85
— 5-6	24,25	3,49	1,87	7,73	53,72
— 7-8	22,50	3,69	1,95	8,66	52,77
— 9-10.	23,75	3,61	1,87	7,89	52,00
— 11-12.	23,75	3,68	1,87	7,89	50,95
— 13-14.	22,50	3,67	1,75	7,77	47,61
— 15-16.	23,50	3,64	1,50	6,66	41,23

Il y en a d'autres, telles que la rose trémière, le cytise, le lierre, le tabac des paysans, l'iris, le buis, l'if, qui se comportent à peu près comme la betterave, mais où le phénomène de relèvement final de la teneur en manganèse est plus rapide et peut devenir assez important (cytise, lierre, iris, buis) pour que les feuilles âgées arrivent à être plus riches que les jeunes (tableau II).

Un troisième groupe comprend les plantes, comme le fusain du Japon, le lilas, le marronnier rouge, le sureau, le syringa, le troène, chez lesquelles la proportion du manganèse augmente d'abord rapidement, de telle sorte qu'elle est maxima chez des feuilles encore jeunes, puis va en diminuant d'une manière très nette, jusqu'à atteindre, dans certains cas, un chiffre inférieur à celui des plus jeunes feuilles. Chez le lilas, le syringa et le troène, la teneur reste cependant plus élevée à la fin qu'au début (tableau III).

Enfin, il y a un quatrième groupe, dans lequel figurent la clématite des bois et l'arbre de Judée, où la proportion de manganèse paraît aller sans cesse en augmentant.

TABLEAU IV.

	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES	MANGAN. EN MILLIGRAMMES pour 100 grammes de MATIÈRE FRAICHE	MATIÈRE SÈCHE	CENDRES
Clématite des bois (été).	p. 100	p. 100			
Feuilles 0,5-1 cent. lg.	23,21	2,06	0,40	1,71	19,27
— 2-3,5 —	21,93	2,65	0,65	2,97	24,58
— 4-5 —	22,39	3,24	0,65	2,94	20,33
— 5,5-7 —	20,52	3,14	1,28	6,22	40,69
Arbre de Judée (été).					
Feuille n° 1	27,22	1,36	0,45	1,66	33,21
— 2	28,90	1,72	0,57	1,98	33,33
— 3	26,88	1,68	0,68	2,51	40,16
— 4	23,64	1,68	0,52	2,18	30,89
— 5	22,93	2,57	0,81	3,51	31,39

Les cendres donnent lieu à des observations analogues aux feuilles, mais les variations de la teneur en manganèse n'y sont pas toujours parallèles à celles qui se produisent dans les organes d'où elles proviennent.

Cela tient évidemment à ce que les phénomènes d'absorption et de migration ne sont pas quantitativement les mêmes pour toutes les substances minérales. Un certain nombre de recherches, auxquelles nos analyses apportent une importante contribution, tendent à établir l'indépendance qui existe à cet égard entre les divers métalloïdes et métaux qui entrent dans la composition des plantes. En ce qui concerne le manganèse, nous avons trouvé que les jeunes feuilles, récoltées dès le début ou peu après, laissent généralement des cendres plus riches que ne le font les feuilles âgées. Ainsi, parmi les dix-sept espèces de feuilles étudiées par nous, deux seulement, celles de cytise et de clématite, ont fait exception à cette règle.

Les feuilles de buis (1) ont laissé tantôt des cendres moins riches à la fin, tantôt des cendres plus riches.

Il est probable que les différences individuelles, la saison, le terrain, l'exposition même, modifient dans une certaine mesure la marche et l'intensité du phénomène d'accumulation du manganèse dans les organes des plantes, que ces causes puissent aller jusqu'à changer la place de telle ou telle espèce dans les groupes que nous avons distingués. Mais ce ne sont là que des questions de détail. Ce qui se dégage le plus nettement de l'ensemble des recherches que nous venons de présenter, c'est que la teneur en manganèse présente un maximum dans la première période du développement de la feuille, parfois dès l'apparition de celle-ci, d'autres fois peu de temps après. La teneur en métal subit dans la suite un fléchissement plus ou moins accentué et plus ou moins prolongé; souvent, enfin, on assiste à un relèvement final, tantôt faible, tantôt assez marqué pour que la proportion de métal contenue dans l'organe soit plus grande à la fin qu'au début. Il serait intéressant de déterminer dans quelle mesure le premier maximum est en rapport avec les fonctions de la feuille, par exemple, avec son activité respiratoire; de rechercher ensuite si le second maximum ne correspond pas seulement au dépôt d'un excès de métal devenu inutile, peut-être même nuisible.

(1) Ces feuilles provenaient de buis plantés dans un endroit un peu spécial du jardin : autour de la cheminée de la chaufferie.

LES AERTRYCKOSES HUMAINES

par

A. BESSON et V. DE LAVERGNE

Médecin-major de 1re classe
Chef du laboratoire de l'hôpital Percy.

Médecin-major de 2e classe
Professeur agrégé au Val-de-Grâce.

Les recherches que nous avons entreprises sur les aertryckoses humaines ont eu comme point de départ la remarque suivante : dans les selles de certains malades atteints de gastro-entérite aiguë, et ayant été régulièrement vaccinés au T. A. B., on peut rencontrer des bacilles ayant tous les caractères culturaux et biochimiques du Bacille paratyphique B.

L'immunisation vis-à-vis du para B, que la vaccination aurait dû conférer, fait-elle donc défaut dans ces cas? Ou bien empêchant l'infection générale, est-elle impuissante à prévenir des troubles locaux ? On peut encore supposer, et c'est là le premier point à éclaircir, que les Bacilles paratyphiques B, agents de gastro-entérite, sont d'une race différente des Bacilles paratyphiques B, agents des infections paratyphoïdes. Aborder cette étude, c'est reprendre le problème si controversé de l'identité ou de la dualité du Bacille paratyphique B et du Bacille d'Aertryck. Pour qui connaît la bibliographie de cette question et les conclusions contradictoires auxquelles sont arrivés les différents auteurs, cette reprise ne semblera pas inopportune.

ÉTAT DE LA QUESTION

On admet aujourd'hui, comme les travaux classiques de Sacquépée ont contribué à l'établir (1), que tous les bacilles ayant les caractères généraux du Bacille paratyphique B, retirés des selles de malades atteints de gastro-entérites aiguës, le plus

(1) Consulter en particulier : SACQUÉPÉE, Les salmonelloses. *Bull. de l'Institut Pasteur*, 1907.

souvent consécutives à des intoxications alimentaires, ne sont pas identiques entre eux.

1° Le groupe du Bacille de Gærtner représente une variété spéciale, bien homogène, que tous les auteurs estiment distincte du groupement des paratyphiques B. Ce bacille possède, en effet, des propriétés d'agglutination passives et actives qui lui sont propres. Disons de suite que les bacilles que nous avons étudiés n'appartenaient pas au groupe du Bacille de Gærtner, n'en ayant aucunement les propriétés agglutinantes spécifiques.

2° Quant aux autres microbes à caractères généraux du paratyphique B, isolés des selles de malades atteints de gastro-entérite aiguë, ils ont reçu différents noms : « Bacilles paratyphiques B », « Bacilles d'Aertryck », « Bacillus suipestifer », « Bacilles carnés ». Mais les germes ainsi diversement étiquetés, sont-ils ou non identiques entre eux, et identiques au paratyphique B du type Schottmüller tel qu'on le retire par hémoculture de l'organisme des malades atteints d'infection paratyphoïde? Actuellement encore des opinions différentes et parfois contradictoires sont émises par les différents auteurs dans les différents pays.

En Allemagne, on admet ordinairement, depuis les travaux d'Ulhenhut et de ses collaborateurs (1), qu'il y a identité entre le Bacille paratyphique B de Schottmüller et le Bacille d'Aertryck, lui-même identique au Bacille suipestifer, ou Schweinpest bacillus. Notons toutefois que, si Ulhenhut ne reconnaît pas l'autonomie du Bacille d'Aertryck, il a décrit un Bacille paratyphique C, isolé de selles de malades atteints de gastro-entérite (2). Le Bacille para C ne se distingue du para B que par son inagglutinabilité vis-à-vis des sérums anti-B ; distinct aussi du Gærtner, il occupe une place au moins très voisine de celle du Bacille d'Aertryck.

C'est à une conclusion aussi formelle mais exactement contraire que les études des auteurs anglais et américains les ont conduits. Les travaux de Bainbridge (3) sont à la base de la

(1) Ulhenhut, Hubener, Xylander et Bohtz. *Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt* (1908 et 1909).

(2) Ulhenhut. *Centralblatt f. Bakt.*, 1909. Heimann. *Centralblatt f. Bakt. Orig.*, 1912.

(3) Bainbridge et O'Brien. *Journ. of Hygiene*, 1911.

conception dualiste : il existe un Bacille d'Aertryck (ou Bacille suipestifer) et il y a un Bacille paratyphique B.

Depuis cet auteur, la dualité est unanimement admise par les médecins de langue anglaise ; dans la seule année 1920, un même journal anglais (1) publie plusieurs relations d'épidémies dues à l'Aertryck, et certains bactériologistes, comme Schütze (2) ont entrepris le démembrement de cette espèce en sous-groupes.

En France, la question de l'identité ou de la dualité du Bacille d'Aertryck et du Bacille de Schottmüller a été tout particulièrement étudiée par Sacquépée dans des recherches personnelles ou faites en collaboration avec Rieux et Chevrel. Il admet que, devant les épreuves d'agglutination, les deux espèces se comportent comme des « espèces voisines ». Enfin, malgré les résultats qu'il a obtenus par les méthodes de la saturation des agglutinines et de la déviation du complément, Sacquépée, tenant compte des observations contradictoires faites par d'autres auteurs, ne conclut pas formellement à l'identité : « les divers résultats, dit-il, sont trop discordants et n'autorisent aucune déduction ferme » (3). Parmi les observations publiées, nous n'avons trouvé que deux cas [un de Netter et Ribadeau-Dumas (4) et un de Henry et Guerbet (5)] dans lesquels le diagnostic bactériologique de Bacille d'Aertryck ait été posé. Même dans les cas où étiologiquement ce bacille pourrait être en cause, intoxications alimentaires, par exemple, les auteurs français mentionnent simplement la présence d'un Bacille paratyphique B, l'identification n'ayant pas été poussée et la différenciation d'avec l'Aertryck négligée. Ajoutons enfin que Job (6) dans une étude sur le paratyphique B accepte les conclusions de l'école allemande.

En résumé, en Allemagne, la majorité des auteurs admettent l'identité du para B Schottmüller et de l'Aertryck ; mais ils reconnaissent un para C, agent de gastro-entérites.

En Angleterre, on admet que le para B Schottmüller est un

(1) *The Journ. of the Royal Army medical corps.*
(2) Schütze. *The Lancet*, janvier 1920.
(3) Sacquépée. *Soc. de Biol.*, 1906, et *Bulletin Institut Pasteur*, 1907, p. 899.
(4) Netter et Ribadeau-Dumas in Sergent. *Tribune médicale*, 1906.
(5) Henry et Guerbet. *Arch. gén. de méd.*, 1907.
(6) Job. *Revue de méd.*, 1913.

microbe différent de l'Aertryck et que ce dernier est la cause de gastro-entérites.

En France, on ne différencie pas, dans la pratique, le Bacille de Schottmüller de l'Aertryck, quoique les travaux systématiques de Sacquépée ne l'aient pas conduit à conclure formellement à l'identité.

ÉTUDE CRITIQUE

On peut s'expliquer en partie que tant de travaux sur le même sujet aient abouti à des conclusions si différentes, en remarquant que le problème n'a pas été abordé sous le même angle par les différents chercheurs.

Lorsque Ulhenhut et ses collaborateurs ont conclu à l'identité des différentes races de para B, ils n'avaient pas comparé entre eux les para B d'hémocultures et les para B de selles. Pour eux, les germes retirés des gastro-entérites humaines, consécutives aux intoxications alimentaires, sont des para B d'origine animale ; et c'est d'une étude comparative des para B d'origine animale (B. suipestifer) et des para B d'origine humaine, qu'ils ont conclu à l'identité de tous ces germes.

Eprouvant, en effet, de nombreux échantillons de para B, classés suivant leur origine humaine, du porc, du veau, par des sérums agglutinants correspondants, ils constatèrent des résultats non concordants : un sérum agglutinant préparé avec un para B d'origine humaine, n'agglutinait pas tous les para B humains, et agglutinait quelques para B du porc ou du veau, de même un sérum agglutinant préparé avec un B. suipestifer agglutinait quelques para B humains sans agglutiner tous les B. suipestifer.

Ulhenhut conclut donc à l'impossibilité de séparer par l'agglutination les diverses espèces de para B classés suivant leur origine.

Mais ces résultats ne peuvent-ils pas indiquer que, chez l'homme comme chez l'animal, on peut rencontrer deux races de bacilles paratyphiques B? Nous verrons que nos recherches prouvent qu'il en est bien ainsi chez l'homme ; et Ten Brock (1)

(1) Ten Brock. *Journ. of experi. Med.*, 1920.

a démontré que, chez les animaux, on peut aussi rencontrer soit un Bacille type Schottmüller, soit un Bacille type suipestifer ou Aertryck.

Le même problème de l'identité ou de la dualité des Bacilles para B a été abordé par d'autres chercheurs suivant une méthode différente : on compare entre elles des souches-étalons, des cultures-types, Bacilles de Schottmüller, Bacilles d'Aertryck, Bacilles de Breslau. Cette méthode offre de très grands aléas. Est-on sûr du pédigree de la souche ? Et quelle garantie a-t-on que le microbe est bien un représentant d'une variété particulière ? Comme le dit Sacquépée à propos du Bacille de Gærtner que certains auteurs allemands ne distinguent pas du paratyphique B parce qu'il posséderait d'après eux les mêmes propriétés agglutinatives : « Sans doute circule-t-il dans les laboratoires allemands des types divers sous le même nom de Bacille de Gærtner. » De même n'est-il pas remarquable de voir que certains auteurs ont trouvé au Bacille d'Aertryck des propriétés agglutinantes très semblables à celles du Bacille de Schottmüller, alors que chacun peut se convaincre qu'il suffit de prendre le Bacille d'Aertryck de l'Institut Pasteur et de le soumettre au sérum agglutinant le paratyphique B (fourni par l'Institut Pasteur) pour constater que ce germe n'est pas agglutiné à 1/50 alors que le Bacille de Schottmüller est agglutiné à un taux très élevé.

Il reste une dernière méthode : elle consiste à comparer entre eux, d'une part, les para B intestinaux retirés des gastro-entérites, et, d'autre part les para B du sang, retirés de l'organisme de malades atteints d'infection paratyphoïde. Déjà la clinique montre qu'il existe une différence marquée entre les deux groupes d'affections ; dans le premier existent des symptômes d'inflammation locale (gastro-entérite), ne s'accompagnant point de septicémie appréciable, survenus sans incubation ; dans le second, il s'agit surtout d'infection générale avec bacillémie, survenant après incubation longue. Il y a un contraste tel entre ces deux maladies que les auteurs les plus portés à admettre l'unicité bactériologique des para B conservent cependant l'expression de « Bacilles carnés », tant il semble que ces bacilles, par l'individualité des troubles de toxi-infection qu'ils déterminent, méritent d'être rangés à part.

Sacquépée (1) a nettement souligné combien il était frappant de rencontrer le paratyphique B à l'origine d'accidents très divers. G. Laroche (2) remarque que le bacille paratyphique B peut créer « deux syndromes bien différents ». Mais s'agit-il du même germe dans les deux cas? C'est là où réside le problème que nous nous sommes efforcés de résoudre.

Il ne faut pas dissimuler, toutefois, qu'en certaines circonstances les deux aspects que peut revêtir l'infection paratyphique B semblent se juxtaposer. Dans certaines observations les deux syndromes se succèdent chez le malade, ou, encore, se manifestent l'un à côté de l'autre en même groupement épidémique. On trouve de tels exemples dans les travaux de Sacquépée (3). Lévy et Fornet (4), Jacobion (5) ont observé des cas semblables. Il importe toutefois de souligner qu'il s'agit là d'exceptions à interpréter (6). Dans la règle il y a un syndrome de gastro-entérite aigu et un syndrome paratyphoïde, différents par leurs aspects cliniques, les circonstances de leur apparition et, nous ajouterons, par le germe qui les cause. C'est en effet à la possibilité d'un diagnostic bactériologique différentiel du Bacille d'Aertryck et du Bacille de Schottmüller, que nous a conduit une étude comparative des para B « intestinaux » et des para B du « sang » (7).

ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE

1° Propriétés biochimiques.

Comme le montre le tableau ci-après, aucune différence ne se marque entre les propriétés biochimiques des deux groupes de Bacilles paratyphiques B. Cette conclusion est conforme

(1) Sacquépée. *Annales d'hyg. et de méd. légale*, 1911.
(2) G. Laroche. *Réunion méd.* IVe année, 1917.
(3) Sacquépée. *Annales d'hyg. et de méd. légale*, 1911.
(4) Lévy et Fornet. *Centralbl. f. Bakt.*, 1906.
(5) Jacobion. *Berlin. klin. Woch*, 1907, n° 12.
(6) L'infection peut être mixte. Sacquépée a pu constater une fièvre typhoïde avec Bacille d'Eberth évoluant dans un groupement épidémique de gastro-entérites dues aux « Bacilles carnés ».
(7) Dans chaque groupe, les différents individus se sont montrés superposables les uns aux autres, sauf sur quelques points que nous indiquerons. Dans nos tableaux nous comparerons les groupes.

	NEUT. ROTH	GLUCOSE	LEV.	LACT.	MANN.	MALT.	SACCH.	GLYCÉRINE	DULC.	H^2S	INDOL.	PETIT-LAIT
B. du sang (Schottmüller).	Réduit.	+	+	0	+	+	0	+	+ Caméléone.	+	0	Caméléone.
B. des selles (Aertryck).	Réduit.	+	+	0	+	+	0	+	+ Caméléone.	+	0	Caméléone.

aux idées classiques, et, en particulier, aux observations de Sacquépée.

Signalons toutefois quelques points particuliers.

1° Les deux espèces noircissent le plomb.

2° Les bacilles du sang, comme les bacilles des selles ne font pas d'indol. De même que Sacquépée, Nicolle et Debains (1) et d'autres auteurs, nous n'avons jamais rencontré de Bacilles para B à fonction indologène. Tout germe ayant l'ensemble des caractères d'un Bacille para B, et faisant de l'indol, doit être étudié avec soin : nous croyons que par cette fonction il appartient à d'autres groupes de Salmonelloses, celui du Bacille de Morgan et du Bacille de Castellani, qui sont avant tout des bacilles indologènes (2).

3° Nous n'avons pu confirmer les travaux de Jordan, Victorson (3), Krumwiede, Kohn et Valentine (4) qui admettent que le Schottmüller et l'Aertryck peuvent se différencier par l'attaque de la dulcite et de la fuchsine en milieu glycosé.

2° Résistance au vert malachite.

Nous avons étudié l'action du vert malachite sur le développement des différents para B. Le tableau ci-contre résume nos expériences :

(1) Nicolle, Debains et Mlle Raphael. Ces *Annales*, 1917.
(2) Besson et de Lavergne. *Paris médical*, mai 1921.
(3) Jordan, Jordan et Victorson. *Journ. infect. Diseases*, 1917.
(4) Krumwiede, Kohn et Valentine. *Journ. of med. Research*, 1918.

	VERT MALACHITE											
	EN BOUILLON						SUR GÉLOSE					
	1 p. 4 000		1 p. 2.000		1 p. 1.500		1 p 4.000		1 p. 2.000		1 p. 1500	
	24 h.	48 h.	24 h.	48 h.	24 h.	48 h.	42 h.	48 h.	24 h.	48 h.	24 h.	48 h.
Bacilles de Schottmüller.	+	++	+	++	0	+	++ Réduction à la 18e heure.	++	+	++	0	+
Bacilles d'Aertrick.	++	+++	++	+++	+	++	+++ Réduction à la 7e heure.	+++	++	+++	++	++

0, Pas de réduction; +, Réduction; ++, Réduction totale; +++, Réduction totale, culture très abondante.

Nos recherches montrent donc que, vis-à-vis du vert malachite, le Bacille d'Aertryck se montre plus résistant que le Bacille de Schottmüller. Cela est net à toutes dilutions, mais plus particulièrement à 1/1.500. Lœffler avait déjà noté cette différence. Les auteurs anglais parlent aussi de la « très haute résistance » de l'Aertryck au vert malachite.

3° Milieux vaccinés.

Théobald Smith et Dorothea Smith (1) ont signalé une particularité intéressante des bacilles paratyphiques B. On ensemence un tube à fermentation contenant du bouillon lactosé à 1/100 avec une émulsion de paratyphique B. Bien entendu, il ne se produit pas de gaz et le milieu devient alcalin. Si, après quatre à six jours on réensemence le tube avec un Colibacille, on constate, que suivant la souche de Bacille paratyphique B préalablement ensemencée, il y a soit production abondante, soit production minime ou nulle de gaz. Avec toutes les souches de Bacilles suipestifer, on obtient une grande quantité

(1) Th. et Dorothea Smith. *Journ. of gen. Physiol.*, 3, septembre 1920.

de gaz; avec le Bacille paratyphique B de Schottmüller et le *B. enteritidis* de Gærtner, il n'y a pas ou peu de gaz; dans les deux cas, il y a acidification.

Nous avons vérifié les expériences de ces auteurs en utilisant des souches de Bacilles paratyphiques B d'hémoculture et nos souches de Bacilles d'Aertryck provenant de selles (*Bacillus suipestifer*).

Tout d'abord, nous avons recherché si le B. Coli poussait sur la gélose vaccinée par ces bacilles; des cultures de cinq jours raclées ont été ensemencées avec un B. Coli. Les résultats peuvent être résumés ainsi qu'il suit:

	30 heures	3 jours	6 jours
Bacille B d'hémoculture.	0	0	0
Bacille B intestinal . .	Développement minime.	Développement faible.	Développement marqué.
Bacille Gærtner. . . .	0	0	0
Bacille Morgan	0	0	Développement minime ou nul.

Les tubes de cultures sur gélose inclinée sont donc vaccinés contre le colibacille, d'une façon absolue par le Bacille d'hémoculture, le Bacille de Gærtner, le Bacille de Morgan et d'une façon relative par les Bacilles para B intestinaux.

En milieux liquides, la vaccination n'est pas efficace dans du bouillon lactosé où ont été cultivés pendant six jours les différents bacilles du groupe paratyphique B, le B. Coli pousse toujours plus ou moins rapidement et fait passer à l'acidité la réaction primitivement alcaline. Ce phénomène se produit, soit dans les cultures entières, soit dans le bouillon privé par une centrifugation prolongée des bacilles de la première culture.

L'expérience, répétée dans les conditions où s'étaient placés Th. et D. Smith, donne les résultats consignés dans le tableau suivant.

Nos recherches confirment donc celles de Th. D. Smith, et, fait intéressant, permettent d'opposer au Bacille d'hémoculture les Bacilles intestinaux et de rapprocher ces derniers du Bacille suipestifer.

	PRODUCTION DE GAZ		
	24 heures	48 heures	5 jours
Bacille hémoculture .	0	Une bulle.	Une bulle.
Bacille selles	0	6 à 8 c. c.	9 à 10 c. c.
Bacille Gærtner. . .	0	Une bulle.	Une bulle.
Bacille Morgan	0	0	0

C'est aux mêmes conclusions que nous conduisit l'étude des réensemencements de ces bacilles sur les milieux vaccinés; sur la gélose où ont cultivé pendant six jours les différentes souches de bacilles paratyphiques B, les réensemencements donnent les résultats suivants :

CULTURE DE 6 JOURS sur gélose raclée de	RÉENSEMENCEMENTS AVEC								
	B. HÉMO			B. INTESTINAL			COLIBACILLE		
	24 h.	48 h.	3 j.	24 h.	48 h.	3 j.	24 h.	48 h.	3 j.
B. hémoculture . .	0	0	0	±	+	+	0	0	0
B. intestinal. .	0	0	0	0	0	0	±	±	±
Colibacille . .	0	0	0	±	±	±	0	0	0

4° Agglutination.

L'épreuve de l'agglutination est très importante, ses résultats toutefois doivent être interprétés avec rigueur.

Tout d'abord, l'étude des propriétés agglutinantes du sang des animaux préparés avec des Bacilles para B d'hémoculture et des selles donne les résultats suivants :

NATURE DU SÉRUM	TAUX D'AGGLUTINATION	
	Bacille du sang	Bacille des selles
Sérum anti-B. d'hémoculture . .	6.000	< 100
Sérum anti-B. de gastro-entérite (selles)	2.000	6.000

Comme le montre ce premier tableau, l'agglutination est susceptible de séparer les Bacilles en deux groupes, Bacilles du sang (type Schottmüller), Bacilles intestinaux (type Aertryck). De tels résultats ont été souvent obtenus par d'autres auteurs. Dans une observation déjà citée, Netter et Ribadeau-Dumas ont fait un diagnostic d'Aertryck, parce que le germe n'était pas agglutiné par un sérum anti-B, et l'était par un anti-Aertryck. De même, Henry a identifié un Bacille d'Aertryck à la suite de résultats analogues; dans le tableau des résultats fournis par Sacquépée (1), on voit que certains « bacilles carnés du type Aertryck » sont très peu agglutinés par un sérum anti-B. De même Horn et Huber (2) admettent qu'il y a une « différence certaine » entre la manière dont se comportent le Bacille suipestifer et le Bacille de Schottmüller par rapport aux sérums agglutinants.

Ulhenhut et d'autres auteurs allemands après lui ont isolé de gastro-entérites aiguës consécutives à des intoxications alimentaires des germes qui n'étaient point des Gærtner, qui avaient tout du para B, sauf qu'ils n'étaient pas agglutinables ; et ils leur réservent l'étiquette de Para C. On pourrait alors se demander si les germes de Netter et Ribadeau-Dumas, d'Henry, les nôtres, ne seraient pas des Para C. Mais à cela on peut objecter qu'une souche type de Bacille d'Aertryck (Institut Pasteur) se comporte vis-à-vis de l'agglutination comme tous ces germes ; elle n'est pas agglutinée (1/100) par un sérum anti para B. Enfin, point important, nos germes, comme le Bacille d'Aertryck-type, sont agglutinogènes vis-à-vis du Bacille de

(1) Sacquépée. *Soc. de Biol.*, 1916.
(2) Horn et Huber. *Centralbl f. Bakt. Originale*, 1912, p. 61.

Schottmüller, et dans le tableau dressé par Sacquépée on voit que de tels résultats ont été obtenus par la quasi-unanimité des chercheurs.

Mais, avant de conclure sur ce point si important, il convient de prendre en considération les faits suivants :

1° Plusieurs échantillons d'une même race peuvent être inégalement agglutinables par le sérum spécifique correspondant. Cela est particulièrement vrai des paratyphiques B, comme la remarque en a été faite souvent, notamment par Sacquépée, par Nicolle, Debains et Mlle Raphaël. Mais, devant les sérums expérimentaux, ces différences d'agglutinabilité, pour marquées qu'elles soient, ne vont pas jusqu'à l'inagglutinabilité. Il est vrai que des souches récemment isolées de l'organisme peuvent être inagglutinables et devenir ensuite agglutinables par vieillissement. Mais cette cause d'erreur ne vaut pas pour la plupart des recherches effectuées, où le germe avait été souvent repiqué.

2° Certains germes peuvent n'être pas agglutinés par un sérum, alors qu'ils le sont par un autre sérum préparé avec un autre représentant de la même espèce. Cela ressort bien nettement des recherches de Nicolle, Debains et Mlle Raphaël, et de nos propres expériences comme en témoigne le tableau ci-joint :

BACILLES	TAUX D'AGGLUTINATION	
	Sérum anti-para B du sang (souche P.)	Sérum anti-para B du sang (souche S.)
Bacille para B d'hémoculture. .	6.000	6.000
Bacille para B retiré des selles	< 100	1.000

Ce tableau montre bien comment, sans doute, plusieurs auteurs ont pu obtenir des résultats contradictoires; les uns pensent que le Bacille Schottmüller et le Bacille d'Aertryck sont également agglutinés par le même sérum; les autres estiment qu'un sérum anti-Schottmüller n'agglutine pas les Bacilles d'Aertryck. En réalité, cela dépend du pouvoir agglu-

tinogène du germe qui a servi à la préparation du sérum; certains sérums sont stricts; certains sérums renferment au contraire des coagglutinines. A en croire plusieurs auteurs anglais l'utilisation de germes vivants, pour l'obtention des sérums, donne un pouvoir agglutinant plus strict que les germes morts.

On peut donc préparer à partir de Bacilles type Schottmüller deux sortes de sérums agglutinants : les uns, stricts, n'agglutinant que les Schottmüller; les autres, polyvalents, agglutinant, grâce à leurs coagglutinines, Bacilles de Schottmüller et d'Aertryck. Quel est celui des deux sérums qu'il convient d'employer pour le diagnostic différentiel? Les auteurs anglais usent d'un sérum polyvalent et distinguent ensuite le Schottmüller de l'Aertryck par l'épreuve de la saturation des agglutinines. Ils ont adopté cette manière de faire pour éliminer dès l'abord le diagnostic de para C, ce dernier germe, en effet, étant inagglutinable même par un sérum anti-Schottmüller polyvalent. Au contraire, à user d'un sérum anti-Schottmüller strict, on ne pourrait distinguer un para C d'un Aertryck tous les deux inagglutinables.

Nous croyons, pour notre part, qu'il est plus simple d'utiliser un sérum agglutinant strict, qui n'agglutine que le Bacille de Schottmüller et point l'Aertryck. Cela est d'autant plus pratique que le sérum agglutinant le Bacille paratyphique B, fourni actuellement par l'Institut Pasteur, et qui est répandu dans tous les laboratoires, est strict. Par cette simple épreuve, le diagnostic différentiel est obtenu entre Aertryck et Schottmüller. On éliminerait le diagnostic de para C, en préparant un sérum avec le germe à l'étude; on rechercherait si ce sérum possède des coagglutinines vis-à-vis du Schottmüller et de l'Aertryck; s'il en possède, le germe à l'étude est un bacille d'Aertryck; un sérum préparé avec un para C doit, au contraire, se montrer inactif vis-à-vis de tout Bacille paratyphique B.

5° Saturation des agglutinines.

Lorsqu'on use d'un sérum polyvalent anti-Schottmüller, les para B des selles comme les para B du sang sont agglutinés à un taux élevé; de même les para B du sang sont agglutinés

à un taux élevé par les sérums préparés avec du para B des selles. Que donne alors la saturation des agglutinines ?

NATURE DES SÉRUMS		B. DES SELLES	B. DU SANG
B. du sang S.	Avant saturation . . .	4.000	6.000
	Après saturation par B. du sang.	100	100
	Après saturation par B. des selles.	100	4 000
B. des selles.	Avant saturation . . .	5.000	4.000
	Après saturation par B. du sang.	5.000	200
	Après saturation par B. des selles.	200	100

Par la méthode de la saturation des agglutinines on arrive donc à distinguer parmi les para B deux espèces. Les para B retirés des selles ont une spécificité différente de la spécificité du B du sang, du moins dans les échantillons que nous avons examinés.

Ajoutons de suite que, depuis Baindridge, un très grand nombre d'auteurs anglais ont obtenu des résultats tout à fait analogues aux nôtres, ce qui a fondé la conception actuellement classique en Angleterre, que le Bacille d'Aertryck (Suipestifer) est une espèce différente du Bacille de Schottmüller.

Par contre, certains bactériologistes ont obtenu des résultats contraires : on en trouvera la liste dans le mémoire de Sacquépée. Comment interpréter cette divergence? Il y a à cela, croyons-nous, deux raisons. La première consiste peut-être en ce que certains auteurs ont pris, comme représentants de deux espèces différentes, deux échantillons de même race. La deuxième raison est d'ordre technique et bien mise en évidence par les auteurs anglais, en particulier par Dreyer. Il a trait au phénomène de supersaturation. Lorsqu'on met en contact un germe et un sérum hétérologue (non spécifique,

mais ayant des coagglutinines), une adsorption d'ordre physique, banale, non spécifique, des agglutinines sur les corps microbiens peut se produire, en dehors de la fixation de l'anticorps spécifique (coagglutinines) sur l'antigène correspondant; cette adsorption est surtout marquée lorsque l'émulsion que l'on met en contact avec le sérum est particulièrement dense et lorsque le temps de contact est prolongé. Il s'ensuit que des résultats trompeurs peuvent être obtenus, le dépouillement des agglutinines correspondant non plus à une fixation spécifique, mais à un phénomène d'ordre physique sans spécificité. Aussi faut-il pratiquer la recherche à partir d'émulsions peu denses et sans que le séjour à l'étuve dépasse deux à trois heures. Il est possible que le dépouillement de toutes les agglutinines n'ait pas lieu, mais tout fléchissement du taux est alors significatif; rien n'empêche, du reste, de préciser l'épreuve en augmentant ensuite la densité de l'émulsion ou en prolongeant la durée de contact.

La généralisation de cette méthode parmi les auteurs anglais explique peut-être que les résultats obtenus par eux en ces dernières années aient été concordants. C'est leur technique que nous avons adoptée.

6° Déviation du complément.

La méthode de la déviation du complément n'est pas d'un grand secours pour le diagnostic. Déjà Sacquépée avait montré que par cette recherche on ne peut nettement distinguer un Schottmüller d'un Aertryck. Nos résultats ne font que s'ajouter aux siens (1). On remarquera cependant la légère différence qui existe entre les deux races :

	BACILLE DES SELLES A.	BACILLE DES SELLES Ch.	BACILLE DU SANG S
Sérum anti-Aertryck .	Fixation maxima.	Fixation maxima.	Fixation incomplète.

(1) Nous adressons tous nos remerciements à M. Rubinstein qui a eu la grande obligeance de pratiquer ces recherches pour nous.

7° Pouvoir pathogène expérimental.

L'étude expérimentale du pouvoir pathogène comparé des para B du sang et des para B des selles ne nous a pas permis de trouver un caractère différentiel entre ces deux microbes. Les uns et les autres se comportent de manière analogue; nous n'en indiquerons pas les effets; ils sont communs à toutes les Salmonelloses; et nous les avons décrits à propos du Bacille de Morgan (1).

8° Épreuves d'immunité croisée.

Nous avons été plus heureux dans nos essais pour la mise en évidence d'un pouvoir protecteur spécifique correspondant à chacune des deux espèces. Voici le protocole de nos expériences :

On vaccine un lot de 5 cobayes avec une émulsion de para B du sang (4 injections successives) et un lot de 5 cobayes avec une émulsion de para B des selles.

On détermine ensuite la dose de culture vivante minima susceptible de tuer à coup sûr, en douze ou vingt-quatre heures, un cobaye neuf par injection péritonéale.

Dans chaque lot un des cobayes vaccinés fait la preuve de la vaccination : un animal vacciné avec le para B du sang résiste à l'inoculation intrapéritonéale de la dose de para B du sang qui tue le témoin. De même pour les bacilles des selles.

Les 4 animaux vaccinés contre les para B des selles reçoivent une dose mortelle de culture vivante de para B du sang; 3 meurent dans les vingt-quatre heures en même temps que le témoin. Le 4e est très malade pendant la première journée, puis se remet et ne meurt pas. Les 4 animaux vaccinés contre les para B du sang reçoivent une dose mortelle de culture vivante de para B des selles; alors que les témoins meurent dans les vingt-quatre premières heures, les 4 cobayes en expérience paraissent intacts les deux premiers jours, puis maigrissent et meurent tous le cinquième et le sixième jour.

(1) Besson et de Lavergne. *Soc. de Biol.*, 1921.

En résumé les cobayes vaccinés contre les para B des selles succombent comme les témoins à une inoculation de bacille du sang. Les cobayes vaccinés contre les bacilles du sang, et inoculés avec des para B des selles, ne meurent pas comme les témoins, mais seulement le cinquième ou le sixième jour. Il n'y a donc pas d'action protectrice croisée; mais il existe ce phénomène curieux de protection temporaire exercée par les bacilles du sang, vis-à-vis des bacilles des selles.

9° Conclusions bactériologiques.

Les recherches entreprises sur 4 Bacilles para B isolés des selles au cours de gastro-entérite, et comparés à 6 Bacilles para B retirés du sang (infection paratyphoïde) nous ont montré que l'on pouvait reconnaître en eux des représentants de deux espèces, très voisines, mais différentes. Très voisines, car leurs propriétés biochimiques sont identiques. Différentes, car un sérum anti-B du sang (strict) est inagglutinant vis-à-vis des para B des selles. Il est vrai qu'un sérum agglutinant préparé avec un para B des selles agglutine les para B du sang, de même que certains sérums anti-B du sang peuvent agglutiner les para B des selles.

Mais alors l'épreuve de la saturation des agglutinines pratiquée avec une technique rigoureuse lève tous les doutes. L'épreuve expérimentale de l'immunité croisée confirme cette distinction. La résistance au vert malachite est un signe différentiel à rechercher ainsi que l'étude des milieux vaccinés en milieu glycosé suivant la technique de Th. et D. Smith.

D'autre part les para B du sang sont en tous points identiques aux para B type Schottmüller, alors que les para B des selles ont les mêmes caractères que le B. type Aertryck (I. P.).

D'où cette conclusion, que le Bacille d'Aertryck a son autonomie; que son diagnostic bactériologique peut être posé; qu'il diffère par plusieurs caractères du bacille paratyphique B vrai (type Schottmüller).

ÉTUDE CLINIQUE

1° Observations.

Les quatre Bacilles d'Aertryck que nous avons étudiés, et qui se distinguaient bactériologiquement des Bacilles paratyphiques B par les caractères que nous avons signalés, appartenaient à quatre malades, tous hospitalisés pour diarrhée dysentériforme; mais l'évolution chez eux ne fut pas tout à fait superposable. Deux d'entre eux furent hospitalisés en août-septembre 1920. Ils appartenaient sinon au même corps, du moins à la même garnison (Rueil). Ils faisaient donc partie d'un même groupement épidémique. A la même époque, d'autres malades, venus de la même garnison, présentaient aussi de la diarrhée ou de la dysenterie dues au Bacille de Morgan, ou au Bacille de Castellani, ou au Bacille de Hiss. Aucun cas de fièvre paratyphoïde B n'avait été reconnu, venant de ces mêmes corps. Chez l'un d'eux (Ba) où ce renseignement fut recherché, la vaccination T. A. B. figurait au livret, au moment de l'incorporation (avril 1920).

Chez ces deux malades, même évolution d'une diarrhée simple, ne s'accompagnant pas de phénomènes généraux; point de fièvre à l'hôpital; point de modifications appréciables de l'état de l'abdomen, des différents appareils; notons en particulier l'absence d'hypertrophie de la rate. Le début avait été brusque, par coliques, puis diarrhée. Pas de vomissements. Le nombre des selles était relativement peu élevé : de huit à quinze. Elles se présentaient d'aspect jaunâtre, fécaloïdes. Point de ténesme. Évolution en quatre à sept jours après l'entrée à l'hôpital. Dans les selles : présence de Bacille d'Aertryck. Hémoculture négative.

Un troisième malade, A. L..., présenta aussi une diarrhée simple avec Bacille d'Aertryck dans les selles. Il fut hospitalisé en août 1921.

Un quatrième faisait partie du même groupement épidémique que les deux premiers. C'était un homme vacciné lui aussi au T. A. B. six mois avant (incorporation). Il avait eu un début brusque par des coliques, des vomissements et de la

diarrhée. Dès l'entrée à l'hôpital, il se distingue de ses camarades par l'atteinte de l'état général. Point de modifications appréciables des organes (en particulier pas d'hypertrophie de la rate, pas de taches rosées). Selles très nombreuses, environ 40 à 60 par jour, extrêmement liquides, fécaloïdes, très diluées; facies tiré, vomissements persistants. La température est très élevée (39°6) à l'entrée; pouls très rapide et mou. Dans la journée, vomissements, altération des traits, crampes. La température s'abaisse à 37°5. Mort dans la nuit. C'est en somme le tableau classique du choléra nostras.

Pas de renseignements sur l'étiologie. Notons que l'hémoculture était restée négative. Présence dans les selles de Bacille d'Aertryck.

L'autopsie a montré un état de vascularisation très marqué de l'intestin grêle; les anses sont de couleur hortensia. A l'ouverture, la muqueuse gastrique présente une congestion assez marquée par places. Dans toute son étendue l'intestin grêle est vascularisé avec piqueté hémorragique qui prend toute sa netteté à la terminaison de l'iléon et sur le jéjunum, formant de véritables ecchymoses. Psorentérie très accusée; quatre plaques de Peyer hypertrophiées, tachetées de sang, dures au toucher. Rien au gros intestin. Rate non hypertrophiée. Pas de lésions appréciables des autres appareils. Il s'agit en somme de lésions très analogues à celles que nous avons constatées à l'autopsie d'un malade mort de toxi-infection due au Bacille de Morgan (1); très superposables aussi à ce qui a été relaté dans les autopsies de gastro-entérites aiguës, encore appelées choléra nostras. C'est l'aspect de l'entérite hémorragique, suivant l'expression de Dopter (2).

2° Les manifestations cliniques d'aertryckose humaine.

Le domaine classique de l'aertryckose humaine est représenté par les *gastro-entérites aiguës* consécutives aux *intoxications alimentaires*.

Le nom même de Bacille d'Aertryck rappelle la découverte

(1) Besson et de Lavergne. *Acad. de méd.*, mai 1921.
(2) Dopter. *Acad. de méd.*, mai 1921.

en 1898, par de Nobelé, d'un type de para B qui avait causé une épidémie chez des habitants du village d'Aertryck, après consommation de viande de veau; on trouvera du reste, dans les travaux de Sacquépée (1), tous les faits et toutes les preuves qui montrent que le plus grand nombre des intoxications alimentaires relèvent d'une infection par les « Bacilles carnés » du groupe du para B. Nous avons énuméré plus haut les raisons pour lesquelles ces bacilles doivent être bactériologiquement différenciés des para B d'hémoculture (type Schottmüller). De nombreux auteurs anglais : Bainbridge et O'Brien, Broughton Alcoock, Sewell Smith et Priestley (2), Marrian Perry (3) ont retrouvé le Bacille d'Aertryck dans les selles de sujets ayant été victimes d'intoxication alimentaire. Ils l'ont trouvé dans les selles et non dans le sang. Le sérum des malades était agglutinant.

Il importe de marquer du reste que des paratyphiques B autres que le Bacille d'Aertryck peuvent être en cause : Bainbridge et O'Brien ont trouvé un Bacille de Schottmüller dans un cas. Chantemesse, dans l'épidémie de Cholet, a isolé un Gærtner. Ulhenhut et ses collaborateurs ont décrit un para C, qui est en tout semblable au Bacille de Schottmüller, sauf au point de vue agglutination passive ou active, qu'il ne possède ni pour le Schottmüller, ni pour le Gærtner.

Il est encore bien connu que le paratyphique B peut être la cause de *diarrhées cholériformes*. Seulement, au moins en France, on ne précise pas toujours qu'il s'agit du Bacille d'Aertryck; on porte le seul diagnostic de para B (4). C'est que l'étiologie si spéciale des accidents consécutifs aux intoxications alimentaires fait ici souvent défaut; cas isolés, pas de mets spéciaux à incriminer. Si bien qu'une dualité étiologique ne s'impose pas. Cependant la plupart des auteurs n'ont retiré le germe que des fèces; les hémocultures restent stériles, l'évolution est rapide. Pas de grosse rate ni de taches rosées; traits qui séparent l'affection de celle que cause le plus souvent le Bacille de Schottmüller et qui permettent déjà de soupçonner

(1) Sacquépée. *Les empoisonnements alimentaires.*
(2) Sewel Smith et Priestley. *Journ. of the med. Roy. Army corps*, juin 1920.
(3) Marrian Perry. *Journ. of the R. A. M. C.*, septembre 1920.
(4) Grall et G. Laroche. *Annales de méd.*, 1916.

une aertryckose. En France, cependant, Henry, dans un cas de diarrhée cholériforme, a porté le diagnostic de bacille d'Aertryck, en raison de la différence d'agglutination qui existait entre le Bacille de Schottmüller et celui qui avait été isolé des selles. Les auteurs anglais, Bainbridge et O'Brien, Smith, Priestley, dans tous les cas de syndrome cholériforme avec para B, disent avoir rencontré le Bacille d'Aertryck, comme le montrait la recherche de la saturation des agglutinines. Dans le cas de syndrome cholériforme que nous avons observé, il s'agit bien d'aertryckose, car le germe rencontré se différenciait nettement, et par l'agglutination et par la saturation des agglutinines, du Bacille de Schottmüller. On sait, du reste, que tous les syndromes cholériformes peuvent ne pas relever d'une aertryckose. Bainbridge et O'Brien ont isolé un Bacille de Schottmüller dans un cas. Le Bacille de Gærtner, le Coli (Gilbert et Girode) peuvent être en cause, ainsi qu'une autre salmonella : le Bacille de Morgan (1).

Plus intéressante est, sans doute, la forme la plus simple : *la diarrhée*. Sans doute, lorsque la diarrhée apparaît dans un ensemble épidémique d'intoxication alimentaire, on admet bien qu'elle représente la forme la plus atténuée de l'infection par « les bacilles carnés ». Au contraire, lorsque la diarrhée estivale simple se produit, on la considère, au moins chez l'adulte, comme une manifestation de peu d'importance dont le diagnostic bactériologique n'est généralement pas fait. Le paratyphique B a cependant été signalé quelquefois, notamment pendant la guerre, par Lesieur (2), Grall et G. Laroche (3), Giroux (4). Mais là encore, il n'est pas spécifié qu'il s'agit ou qu'il ne s'agit pas de Bacille d'Aertryck. Les auteurs anglais ont rencontré souvent le Bacille d'Aertryck dans la diarrhée de l'adulte : Bainbridge et O'Brien, Willams, Reudler et Murray. Nous avons reconnu l'aertryckose chez trois malades atteints de diarrhée estivale simple. Bien entendu, là encore, d'autres germes peuvent créer la diarrhée d'été de l'adulte. Mais si les bacilles dysentériques sont souvent en cause, nous croyons que

(1) Besson et de Lavergne. *Acad. de méd.*, 1920.
(2) Lesieur. *Paris médical*, 1917.
(3) Grall et G. Laroche. *Ann. de méd.*, 1916.
(4) Giroux. *C. R. Soc. méd.*, IVe année, 1917.

les salmonella interviennent pour une large part : les Bacilles de Morgan le plus souvent (au moins dans la région du Gouvernement militaire de Paris, en ces deux dernières années), les Castellani, les Bacilles type Aertryck, et peut-être aussi les Bacilles type Schottmüller, quoique nous n'en ayons jamais rencontré.

En résumé, il semble démontré que, chez l'homme, l'aertryckose ne se révèle pas sous la seule expression des gastro-entérites aiguës symptomatiques des intoxications alimentaires. Le syndrome du choléra nostras peut en être une manifestation, de même que la gastro-entérite la plus simple : la diarrhée.

ÉTUDE ÉTIOLOGIQUE

Si les diarrhées simples et les diarrhées cholériformes peuvent être, comme nous le pensons, des manifestations d'aertryckose, on voit que les empoisonnements alimentaires sont loin de représenter la cause unique de cette infection.

L'ingestion de viandes n'en représente pas moins un facteur étiologique important; mais nous ne nous étendrons pas sur ce point, qui est classique. On sait du reste, depuis les recherches d'Ulhenhut et de ses collaborateurs, que le Bacille paratyphique B. type Suipestifer identifiable à l'Aertryck, se rencontre fréquemment dans l'intestin du porc, du veau en bonne santé, dans de nombreux produits de boucherie et surtout de charcuterie.

L'*eau* est également susceptible de véhiculer l'infection ; assez souvent la diarrhée et même le syndrome cholériforme sont attribués à l'ingestion d'eau. Sacquépée et Bellot (1), notamment, ont rapporté une belle observation de gastro-entérite aiguë due à la consommation d'eau de Seine, et attribuable à un microbe du groupe paratyphique B.

Une antique remarque lie l'existence de la diarrhée d'été à la consommation de *fruits*. Sans doute faut-il distinguer les troubles digestifs simples, consécutifs à l'indigestibilité de

(1) Sacquépée et Bellot, *Paris médical*, 1911.

certains fruits pris en excès ou peu mûrs, de la maladie infectieuse dont la diarrhée est le syndrome, et le fruit le véhicule de l'agent microbien. Dans ce dernier cas, le fruit peut, comme toute autre crudité, être une cause d'aertryckose par la contamination de poussières, d'eau impure, ou contact de mains sales.

Souvent, du reste, on ne peut incriminer aucun aliment précis. C'est que le Bacille d'Aertryck peut arriver aux voies digestives par des modes très divers. Existant dans les fèces de certains animaux sains ou malades, ou d'hommes malades, il peut parvenir à l'homme sain en prenant les voies les plus détournées, véhiculé par les poussières, le contact de mains sales, les mouches. Une place à part doit être réservée à la contamination due *aux porteurs de bacilles*. Sacquépée a depuis longtemps démontré l'existence de sujets victimes d'intoxication alimentaire et conservant longtemps dans les selles des Bacilles carnés. Avec Bellot il a mis en évidence le rôle de tels porteurs dans l'épidémiologie des intoxications alimentaires. Mais cette persistance des Bacilles d'Aertryck dans les selles ne s'observe pas seulement à la suite de gastro-entérites aiguës graves; il en est de même dans la diarrhée simple, symptomatique d'une aertryckose. Une belle observation de Marrian Perry (1) montre qu'un homme, ayant été atteint de « diarrhée estivale » légère, à Bacille d'Aertryck, conserva longtemps le germe dans ses selles; étant cuisinier, il transmit le bacille autour de lui, et provoqua de la sorte une petite épidémie d'aertryckose.

Les causes de l'aertryckose, modes d'infection et modes de contamination, par les mains sales, par les mouches, sont en somme communes à toutes affections intestinales : maladies typho-paratyphiques et dysenterie. D'une part, c'est aux mêmes saisons, dans les mêmes conditions, qu'apparaissent gastro-entérites, et recto-colites, d'autre part il n'y a point d'épidémies de diarrhées ou de dysenterie où les différents germes : Bacilles dysentériques, Bacilles paratyphiques B, bacilles de Morgan ne soient intriqués. Nous pouvons en citer deux exemples nets : dans une relation d'épidémie de dysenterie

(1) Marrian Perry. *Journ. of the R. A. M. C.*, septembre 1920.

rapportée par Bezançon (1), on voit qu'à côté du Bacille de Shiga qui prédominait se trouvaient aussi de nombreux bacilles atypiques, de l'Eberth, des paratyphiques A. Inversement dans une épidémie de diarrhée, survenue en l'été 1920 dans la garnison de Rueil, nous avons constaté, à côté de quelques Bacilles de Hiss, du Bacille de Morgan le plus souvent, du Bacille de Castellani, et deux fois le Bacille d'Aertryck. Il semble donc que l'épidémiologie de l'aertryckose soit commune à l'épidémiologie de tous les germes pathogènes intestinaux, qui, à partir des selles des malades ou des porteurs sains, diffusent, grâce à la saison chaude, par les modes les plus divers.

Enfin l'observation montre que les sujets qui possèdent une immunité contre le Bacille de Schottmüller, par la vaccination, ne sont pas protégés contre le Bacille d'Aertryck. Nos constatations nous montrent que, chez trois de nos malades, une vaccination régulière au T. A. B. avait été pratiquée trois mois auparavant : ils n'en présentaient pas moins des signes d'aertryckose, et la maladie, chez l'un, fut mortelle. A ces constatations se joignent les faits rapportés par Broughton Alcock (2): plusieurs sujets victimes d'un empoisonnement alimentaire dû au bacille d'Aertryck avaient été récemment vaccinés au T. A. B.

Nous avons vu, du reste, qu'expérimentalement, il n'y avait pas de coprotection. Ten Brock a obtenu des résultats analogues.

DIAGNOSTIC

Le diagnostic d'aertryckose devra être particulièrement soupçonné dans les intoxications alimentaires, les syndromes cholériformes et les diarrhées.

Pour affirmer le diagnostic, il ne faut point compter sur l'hémoculture. Dans la règle, le Bacille d'Aertryck n'est point saisissable dans le sang circulant. Au contraire, le séro-diagnostic pourra être utilisé si toutefois l'affection est assez

(1) Bezançon. *Acad. de méd.*, 1917.
(2) Alcock. *Journ. of the R. A. M. C.*, octobre 1920.

marquée et d'assez longue durée. Le séro-diagnostic donnera des indications variables : tantôt l'agglutination sera marquée pour l'Aertryck, et non pour le Bacille type Schottmüller. Ce cas est le plus rare. D'ordinaire, l'agglutination sera positive pour le type Aertryck et pour le type Schottmüller. Il sera nécessaire alors d'avoir recours à la saturation, en tenant compte des règles que nous avons données, d'après les auteurs anglais.

Le vrai diagnostic se fait à partir des bacilles retirés des selles. Les bacilles « bleus » sur gélose lactosée tournesolée étant isolés, on s'assure des caractères culturaux qui doivent être ceux du Bacille de Schottmüller. On portera grande attention à l'absence de production d'indol. Tout para B indologène doit être considéré comme différent du Schottmüller ou de l'Aertryck; c'est au contraire le signe qui pousse au diagnostic de Morgan et de Castellani, surtout si en tube B lactosé une toute petite bulle de gaz s'est produite. L'attaque du saccharose fera le diagnostic de Castellani. Son absence et l'absence d'attaque de la mannite (qui peut manquer chez certains Morgan) caractérisent le Morgan.

Mais si les caractères culturaux et biochimiques sont bien d'un paratyphique B, on recherche alors l'agglutination avec des sérums anti-Schottmüller et anti-Aertryck. Dans une première hypothèse, l'agglutination est négative avec Schottmüller et positive avec Aertryck; le diagnostic est fait. Dans une deuxième hypothèse, l'agglutination se fait à un taux à peu près équivalent avec les deux sérums. On pratique alors la saturation en ne laissant que deux heures à l'étuve, les deux sérums et l'émulsion du microbe à identifier; les sérums sont ensuite mis au contact, à taux variables, d'une émulsion de Schottmüller, d'Aertryck et du microbe à examiner. La lecture des résultats tranche le diagnostic. Si l'épreuve était douteuse, on pourrait la recommencer en modifiant la densité de l'émulsion et la durée du contact, mais *surtout* il conviendrait de préparer un sérum agglutinant à partir du germe étudié, et de reprendre avec lui l'épreuve de saturation des agglutinines. Enfin, si le germe rencontré a des caractères culturaux identiques au Bacille paratyphique B, mais ne se montre agglutiné ni par un sérum anti-Schottmüller

ni par un sérum anti-Aertryck, trois hypothèses se posent : 1° il s'agit d'un Bacille de Gærtner, ce que montrera l'épreuve de l'agglutination vis-à-vis d'un sérum spécifique; 2° il s'agit d'un para C, hypothèse à vérifier en préparant un sérum agglutinant à partir du germe à l'étude, et qui doit alors se montrer inefficace vis-à-vis du Schottmüller comme de l'Aertryck; 3° il s'agit d'un Schottmüller ou d'un Aertryck inagglutinable au sortir de l'organisme, et qui retrouvera ses propriétés d'agglutinabilité par vieillissement.

Il nous a semblé que l'existence des aertryckoses est d'un certain intérêt et mérite d'être reconnue. A ceux, en effet, qui pourraient penser que l'existence d'une espèce microbienne ne doit pas dépendre de nuances dans les propriétés d'agglutination, il est simple de répondre que le morcellement des microbes du groupe typho-paratyphique, des Méningoccoques, des Pneumocoques, repose, par sa plus grande partie, sur l'existence de différences dans le pouvoir agglutinant des différents germes.

De plus, cette distinction entre les Bacilles Aertryck et les Bacilles paratyphiques B correspond à des infections d'allures cliniques distinctes. Les différents méningocoques, les différents pneumocoques, que séparent des propriétés biologiques, donnent des méningites et des pneumonies qui sont cliniquement identiques entre elles. C'est la clinique ici qui appelle au contraire la distinction bactériologique. Et c'est là, semble-t-il, le principal intérêt des études bactériologiques, qui permettent de donner au Bacille d'Aertryck une autonomie qui le distingue du Bacille de Schottmüller : le Bacille paratyphique B n'est pas l'agent de deux syndromes profondément différents ; il y a en réalité des aertryckoses et des infections paratyphoïdes B.

DE LA VALEUR ANTIGÈNE DE BACILLES TUBERCULEUX ET D'AUTRES MICROBES CULTIVÉS DANS LE MILIEU A L'ŒUF

par A. URBAIN.

Dans le but de comparer leur valeur antigène nous avons cultivé dans le milieu à l'œuf de Besredka une série de bacilles tuberculeux humains, bovins, aviaires et pisciaires, cinq bacilles paratuberculeux, du bacille diphtérique, du *B. subtilis*, du staphylocoque et du streptocoque.

Dans tous les cas le milieu à l'œuf a été réparti à raison de 50 cent. cubes par boîte de Roux. Tous les germes que nous avons ensemencés dans ce milieu y ont poussé activement; leur culture est cependant plus abondante après deux ou trois passages.

Nous avons recherché, pour chacune des espèces microbiennes, sa valeur antigène vis-à-vis d'un sérum de cheval antituberculeux, très riche en anticorps, et de sérums humains provenant de malades atteints de tuberculose. Nous nous sommes servi pour cela d'une émulsion microbienne préparée de la façon suivante. On part d'une culture de quatre jours tuée par un chauffage de trente minutes à 100°. On laisse pendant vingt-quatre heures les corps microbiens se déposer au fond de la boîte de Roux; on décante, puis on centrifuge le dépôt. Le culot ainsi obtenu est dilué dans 4 cent. cubes d'eau physiologique. Cette suspension microbienne est ensuite soumise, au moins pendant deux heures, à une agitation mécanique dans un tube de verre à parois épaisses et muni de perles de verre.

On obtient ainsi une émulsion mère qui est titrée de la façon habituelle avant son emploi. Il faut, pour obtenir l'antigène à l'œuf prêt à servir, le diluer dans 20 à 30 fois son volume d'eau physiologique à 9 p. 1.000 dans le cas de bacilles tuber-

culeux humains et bovins, dans 10 à 15 fois son volume quand il s'agit d'autres germes.

Toutes les réactions de fixation, ainsi que les essais de titrage ont été faits suivant la technique de Calmette et Massol. Les résultats obtenus, exprimés en unités d'alexine fixée, d'après le rapport $\frac{N}{V}$, sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Bacilles humains . . .	Souche	Besredka. . . .	1.200 unités.
— . . .	—	Berthemet . . .	1.100 —
Bacilles bovins	—	Vallée	900 —
—	—	Boquet.	875 —
Bacilles aviaires . .	—	Poule-Paris . .	450 —
— . . .	—	d'Hérelle. . . .	550 —
— . . .	—	Rinjart.	565 —
— . . .	—	Staub	555 —
— . . .	—	Jousset . .	575 —
Bacille pisciaire			450 —
Bacilles paratuberculeux.	Korn I.		450 —
—	Grassberger.		430 —
—	Rabinowitch.		350 —
—	Moeller		400 —
—	Fléole.		575 —
Bacille diphtérique.			550 —
B. subtilis			0 —
Streptocoque humain (2 souches)			15 —
Staphylocoque (2 souches)			0 —

La comparaison des chiffres de ce tableau fait ressortir d'une façon très nette des différences marquées entre les émulsions des divers microbes étudiés. Les bacilles tuberculeux humains ont la propriété antigène de beaucoup la plus élevée; ils sont suivis de près par les bacilles bovins. Quant aux bacilles aviaires, pisciaires et paratuberculeux, ils sont bien moins actifs que les précédents. Le bacille diphtérique, en conformité avec ce qu'ont signalé Massol et Grysez, Nègre et Boquet, Urbain et Fried, fixe aussi les anticorps tuberculeux, son pouvoir antigène étant sensiblement égal à celui de certains bacilles aviaires et paratuberculeux. Enfin, le *B. subtilis*, le streptocoque et le staphylocoque donnent une réaction de fixation négative ou très faible en présence du sérum antituberculeux.

Nous avons, d'autre part, recherché l'âge auquel l'émulsion bacillaire provenant d'une culture en milieu à l'œuf de

bacilles tuberculeux, bovins, aviaires et de bacilles paratuberculeux, présente sa valeur antigène la plus élevée. Pour chacune de ces cultures nous nous sommes en outre demandé quelle était sa partie active. Pour cela nous avons étudié comparativement la valeur antigène de l'émulsion bacillaire préparée de la façon habituelle, celle de la culture entière et celle du liquide de la culture privée de ses bacilles par centrifugation. Dans tous les cas la culture entière avait été avant son titrage additionnée de sel marin à raison de 9 p. 1.000 et soumise ensuite à une agitation mécanique dans un tube muni de perles de verre.

Nous donnons dans le tableau ci-dessous les résultats de nos divers examens :

	CULTURE DE	CULTURE ENTIÈRE	ÉMULSION MICROBIENNE	LIQUIDE SEUL
1° *Bacille humain* (souche Besredka).	4 jours.	1.200 unités	1.200 unités	0 unité.
	10 —	1.000 —	950 —	50 unités.
	30 —	900 —	650 —	250 —
	45 —	800 —	550 —	250 —
	75 —	700 —	350 —	350 —
2° *Bacille bovin* (souche Vallée).	4 —	900 —	900 —	0 —
	15 —	750 —	700 —	50 —
	35 —	700 —	550 —	150 —
	60 —	600 —	400 —	200 —
	80 —	500 —	250 —	250 —
3° *Bacille aviaire* (souche d'Hérelle).	4 —	550 —	550 —	0 —
	10 —	475 —	450 —	25 —
	25 —	350 —	300 —	50 —
	40 —	300 —	250 —	50 —
	60 —	250 —	150 —	100 —
4° *Bacille paratuberculeux* (Korn I).	4 —	450 —	450 —	0 —
	15 —	350 —	300 —	50 —
	30 —	325 —	250 —	75 —
	50 —	250 —	150 —	100 —

La lecture de ce tableau montre d'une façon évidente que :

1° La valeur antigène d'une culture décroît avec l'âge; c'est au quatrième jour de son existence qu'elle est le plus active.

2° Les bacilles laissent exsuder avec l'âge de plus en plus de produits actifs dans le liquide ambiant, au fur et à mesure que

le pouvoir antigène bacillaire baisse, celui du liquide augmente ; nul au début du quatrième jour de la culture, le pourvoir antigène du liquide est assez accusé au soixantième jour.

3° La valeur antigène de l'émulsion bacillaire, réunie à celle du liquide, correspond dans tous les cas à celle de la culture entière.

*
* *

Dans une autre série d'expériences, nous avons recherché si l'antigène à l'œuf (souche Besredka), préparé comme nous l'avons dit précédemment, était d'une conservation difficile, ainsi que divers auteurs l'ont signalé (Bezançon et Bergeron ; Nègre et Boquet).

Dans ce but nous avons examiné un certain nombre d'échantillons de cet antigène, ayant douze, quatorze ou quinze mois de préparation. Tous ces échantillons n'avaient été l'objet d'aucun soin particulier ; ils étaient en ampoules scellées et conservés dans un coin du laboratoire ; quelques-uns d'entre eux étaient restés exposés à la lumière pendant plus de six semaines. Les antigènes avaient leur aspect habituel ; aucun précipité en grumeaux n'y était visible.

Examinés vis-à-vis d'un sérum antituberculeux (titrant avec la méthode de numération Calmette et Massol 1.500 unités d'anticorps), tous ces antigènes avaient gardé intacte leur propriété de fixer l'alexine en présence de la sensibilisatrice tuberculeuse ; ils étaient donc en tous points comparables à un antigène à l'œuf de préparation récente.

A l'occasion de ces examens, il nous a paru intéressant de rechercher, ainsi que nous l'avons déjà fait pour les cultures d'âges différents, quelle était la partie active de l'antigène de Besredka. Pour la déterminer, nous avons centrifugé une certaine quantité d'une émulsion microbienne fraîchement préparée, c'est-à-dire provenant d'une culture de quatre jours. Nous avons décanté le liquide surnageant et avons repris le culot par un volume égal d'eau physiologique. En procédant ainsi, nous constatâmes que la partie surnageante n'avait aucun pouvoir antigène, tandis que l'émulsion fixait énergiquement l'alexine en présence d'anticorps tuberculeux.

Lorsqu'on examine une émulsion de bacilles tuberculeux faite depuis trois semaines et qu'on la soumet aux mêmes opérations que tout à l'heure, on note que la partie liquide surnageante commence à fixer faiblement l'alexine, l'émulsion microbienne restant toujours très active.

Si on prend une émulsion de trois mois, on constate, comme l'ont fait Nègre et Boquet, que c'est la partie surnageante qui est devenue très active ; quant à l'émulsion bacillaire elle-même, elle ne dévie que faiblement le complément. C'est qu'en effet dans une émulsion âgée de trois mois les bacilles tuberculeux ont laissé exsuder leur substance active dans le milieu ambiant.

Enfin dans une émulsion de bacilles conservée depuis quinze mois, les corps bacillaires ont une action fixatrice très faible, la presque totalité des produits actifs ayant été déversés dans l'eau physiologique.

CONCLUSIONS

En cultivant dans le milieu à l'œuf de Besredka des bacilles tuberculeux humains, bovins, aviaires et pisciaires, des bacilles paratuberculeux, du bacille diphtérique, du *B. subtilis*, du streptocoque et du staphylocoque, on constate ceci :

1° Une différence accusée existe dans leur valeur antigène, le bacille tuberculeux humain étant de beaucoup le plus actif.

2° Le bacille diphtérique a une activité comparable à celle de certains bacilles aviaires et paratuberculeux.

3° Le *B. subtilis*, le staphylocoque et le streptocoque n'ont aucune valeur antigène.

4° La culture de quatre jours, préconisée par Besredka, est celle qui a le pouvoir antigène le plus actif.

5° La partie liquide de la culture s'enrichit avec l'âge, au détriment des bacilles, des produits de ces derniers : inactive au début, la partie liquide acquiert, au bout de quelques semaines un pouvoir antigène très accusé.

6° La préparation d'un antigène à l'œuf est facile et rapide ; sa conservation peut être indéfinie, car au bout de quinze mois il est tout aussi actif et sensible qu'au premier jour de sa préparation.

(Institut Pasteur et Laboratoire militaire de recherches vétérinaires.)

BIBLIOGRAPHIE

A. Besredka, Culture des bacilles tuberculeux dans du jaune d'œuf. Ces *Annales*, p. 291, mai 1921.

F. Bezançon et Bergeron, Valeur pratique de la réaction de fixation aux antigènes tuberculeux. *Revue de la tuberculose*, **2**, 1921, p. 393.

A. Boquet et L. Nègre, Mode de préparation et pouvoir antigène des extraits alcooliques de bacilles tuberculeux. *C. R. Soc. Biol.*, **82**, p. 880.

A. Calmette. *L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux*. Masson et Cie éditeurs, Paris, 1920.

A. Calmette et L. Massol. *C. R. Soc. Biol.*, 6 janvier 1912.

A. Calmette, Massol et Breton. *C. R. Acad. des Sciences*, 30 mars 1908.

Massol et Grysez. *C. R. Soc. Biol.*, 1914, **77**, p. 428.

L. Nègre et A. Boquet, Valeur antigène comparative des extraits alcooliques de bacilles tuberculeux et de microbes divers. *C. R. Soc. Biol.*, 26 juin 1920, **83**, p. 360.

— Recherches sur la valeur antigène des émulsions bacillaires et des extraits éthyliques et méthyliques de bacilles tuberculeux. Ces *Annales*, p. 300, mai 1921.

A. Urbain, Durée de conservation et préparation de l'antigène à l'œuf. *Revue de la tuberculose*, **3**, n° 1, 1922, p. 81.

— Valeur antigène de Bacilles tuberculeux et paratuberculeux et de quelques autres microbes cultivés dans le milieu à l'œuf. *C. R. Soc. Biol.*, 2 février 1922, p. 308.

A. Urbain et B. Fried, De la spécificité de l'antigène tuberculeux de Besredka. Ces *Annales*, p. 294, mai 1921.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

36e ANNÉE JUILLET 1922 N° 7

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

RÉACTION DU MILIEU ET PRODUCTION DE LA TOXINE DIPHTÉRIQUE

par G. ABT et G. LOISEAU.

(Travail du laboratoire du Dr L. Martin.)

I

Dès les premières études sur la culture du bacille de la diphtérie et sur la production de la toxine, l'existence d'une phase d'acidification, pendant les premiers jours, fut constatée. Roux et Yersin [1], dans leurs premiers mémoires, signalent que « les cultures du bacille de la diphtérie, dans le bouillon de veau légèrement alcalin, deviennent acides dans les premiers jours et qu'elles prennent une réaction alcaline après un temps plus long. Tant que la culture est acide, son pouvoir toxique n'est pas considérable et il est nécessaire d'injecter aux animaux une grande quantité de liquide filtré pour leur donner l'empoisonnement diphtérique aigu. Plus tard, lorsque la culture est alcaline, sa puissance toxique a beaucoup augmenté ».

Pour obtenir une production constante de toxine très active, les efforts des expérimentateurs ont porté sur la suppression de cette phase d'acidification. Dès 1895-1896, deux points retenaient spécialement l'attention : qualité de la viande employée (Spronck [2]); taux d'alcalinisation du bouillon (Park et Williams [3]) ; en 1898 une heureuse synthèse des recherches

antérieures et la préparation d'une peptone de composition constante permettent la préparation et l'étude par L. Martin du bouillon qui est encore utilisé actuellement à l'Institut Pasteur, sans modification sensible, pour la préparation de la toxine diphtérique nécessaire à l'immunisation et à l'entretien des chevaux producteurs de sérum antidiphtérique. En raison de la parfaite adaptation de ce milieu à la production de la toxine diphtérique nous donnons ici son mode de préparation.

*
* *

Macération de viande. — La viande employée provient de cuissots de veau de première qualité, viande très blanche, complètement débarrassée de graisse, de tendons et d'aponévroses.

La viande hachée est mêlée avec le double de son poids d'eau, réchauffée de manière que le mélange soit à une température voisine de 37° (les quantités traitées dans le même récipient varient de 15 à 20 kilogrammes de viande pour 30 à 40 litres d'eau), puis le mélange séjourne environ vingt heures à l'étuve à 37°.

Au sortir de l'étuve, par suite de la fermentation spontanée qui s'est produite, la plus grande partie de la viande est montée à la surface du liquide, sous forme d'un chapeau, dont on se débarrasse sans l'exprimer ; le liquide restant constitue la macération de viande.

Solution de peptone. — Elle est toujours préparée au laboratoire suivant la technique indiquée en 1898 par L. Martin [4].

Les estomacs de porc (panses) dégraissés et lavés sont hachés.

Ce hachis est mélangé avec de l'eau acidulée chauffée à 50°, dans les proportions suivantes :

Eau à 50°	1.000 cent. cubes.
Hachis de panses de porc	200 grammes.
Acide chlorhydrique pur	10 cent. cubes.

Les récipients en terre vernissée ou en grès employés pour cette digestion contiennent de 25 à 30 litres de liquide.

L'eau est maintenue à une température de 50° pendant quinze à dix-huit heures.

Après ce temps écoulé, on chauffe à 100° pour détruire la pepsine en excès et on laisse refroidir. Ce liquide acide constitue une solution de peptone à 4 p. 100; il se clarifie par le repos ; décanté deux à trois jours après sa préparation il est prêt à être employé.

Bouillon. — Au moment de préparer le bouillon on neutralise la quantité de solution de peptone nécessaire, neutralisation qui s'opère à chaud avec la lessive de soude, le papier de tournesol servant d'indicateur ; de gros flocons se précipitent et le liquide filtré sur papier donne une solution de peptone parfaitement claire.

Reprenons la macération de veau au sortir de l'étuve, débarrassée de la viande; elle est mélangée à volume égal avec la solution de peptone neu-

tralisée, portée à la température de 100°, puis filtrée sur une chausse en étoffe.

Le liquide filtré est maintenu à une température de 70-80° pour l'alcalinisation avec une solution de soude. On alcalinise, avec la phénolphtaléine comme indicateur, jusqu'au début du virage; la comparaison avec un tube témoin permet de saisir la modification de teinte du milieu dès le début du virage au rose.

Le bouillon alcalinisé est filtré sur papier Chardin, chauffé à l'autoclave pendant trente minutes à 120°, filtré sur papier ordinaire, réparti dans des ballons de Fernbach à la dose de 1.200 cent. cubes par ballon, et chauffé trente minutes à 115° pour la stérilisation.

*
* *

Avec le milieu Martin ainsi préparé, et ensemencé avec le bacille diphtérique Am 8, on obtient une toxine très active ; la dose minima qui tue en quatre jours le cobaye de 350 grammes reste à peu près constante d'un bout à l'autre de l'année. Comme on le verra par les chiffres que nous citons plus loin (tableau III), ces variations soudaines et inexplicables de l'activité de la toxine, dont parlent la plupart des auteurs, ne se produisent pas à l'Institut Pasteur. Il semblerait que depuis les travaux de Spronck, de Th. Smith [5], de L. Martin, sur l'influence nocive des sucres de la viande, qu'il faut faire disparaître par une fermentation appropriée, elles ne devraient plus être observées. Nous voyons cependant qu'elles préoccupent non seulement Madsen [6] en 1898 et 1908, mais Mac Conkey [7] à l'Institut Lister en 1912, Bunker [8] en Amérique en 1919, Dernby et Davide [9] à l'Institut sérothérapique de Suède en 1921 ; et dans la récente publication (1921) de l'Institut de Thérapeutique expérimentale de Francfort sur le contrôle officiel des sérums, dont cet Institut est chargé, Otto et Hetsch [10] disent encore que, sur une série de ballons mis en culture en même temps, une partie sera inutilisable pour la préparation de la toxine-étalon, parce que l'activité du poison restera trop faible.

Cherchant la cause de ces irrégularités, Madsen avait étudié dès 1898 l'influence de la réaction initiale du milieu de culture. Il désignait le titre de ses bouillons par le nombre de centimètres cubes de soude normale qu'il fallait ajouter par litre pour arriver au virage de la phénolphtaléine; et il obtenait ce résultat surprenant que lorsque le titre initial était 18,5 à 20,5,

la culture s'acidifiait davantage, et restait toujours acide; quand le titre était 8,5 à 9, après une phase d'acidification elle devenait toujours alcaline ; enfin entre 8,5-9 et 18,5-20,5, tantôt la culture évoluait vers l'acidité, tantôt elle s'alcalinisait plus ou moins rapidement. (Le titre 15 correspond à la neutralité au tournesol. Avec 18,5 on est donc en milieu faiblement acide). Quant à la production de toxine, elle était toujours nulle dans les cultures acides; mais dans les cultures alcalines tantôt elle était satisfaisante, tantôt elle restait très faible, ou même faisait totalement défaut. Ces faits curieux ont été pleinement confirmés, à quelques détails près, par Jacobsen [**11**], qui refit les expériences sous l'inspiration de Madsen, en 1911. Toutefois Jacobsen reproduisit aussi les résultats de Lubenau [**12**], qui avait critiqué en 1908 le travail de Madsen, en partie par suite d'une erreur d'interprétation dans la détermination du titre. Lubenau avait montré que si la macération de viande peptonée est soumise au préalable à une fermentation par le B. coli, pendant quarante-huit heures, suivant la méthode de Th. Smith, les cultures deviennent alcalines quelle que soit la réaction initiale, tandis que si l'on ajoute à cette macération fermentée 1 p. 100 de glucose, elles s'acidifient fortement. La production de la toxine n'avait pas été envisagée dans ce travail. Jacobsen, qui a repris les expériences de Lubenau, avec les corrections nécessaires, a vu ensuite qu'avec une addition moins forte de glucose, et un titre initial suffisamment alcalin, on pouvait obtenir une phase assez longue d'acidification suivie d'une alcalinisation définitive. On voit que la richesse du milieu en sucre a bien une importance capitale, puisque aussi longtemps que le sucre n'est pas épuisé, il contrarie l'alcalinisation normale de la culture en donnant lieu à la production d'acide. Il y a cependant encore des bactériologistes qui croient utile d'ajouter un peu de sucre à leurs milieux. Ils ne doivent obtenir de toxine que si l'alcalinité initiale est très élevée, ou si le milieu est capable de compenser l'acidité par une production énergique d'alcali.

Ces recherches n'ont pas abouti à préciser toutes les conditions propres à assurer la marche uniforme des cultures; comme le dit Madsen, il semble que des changements importants naissent de très petites causes. Il était indiqué d'étudier

sur le milieu Martin, qui offre l'avantage d'une grande régularité, l'influence de la réaction initiale et les rapports de ses variations pendant la culture avec la production de la toxine.

II

L'un d'entre nous, en 1906, avait essayé de préciser la marche de l'alcalinisation au cours de la culture du bacille diphtérique, en partant de différents taux d'alcalinité. Le procédé de dosage de l'alcalinité par la méthode titrimétrique employé à ce moment, avec le tournesol comme indicateur, ne permit pas d'obtenir des résultats suffisamment constants et comparables pour en tirer des conclusions précises. Sur les graphiques établis avec les taux d'alcalinité journalière, on voyait nettement la baisse de l'alcalinité pendant les vingt-quatre premières heures de culture, suivie d'une ascension progressive du taux de l'alcali jusqu'au dixième jour, date au delà de laquelle les essais n'ont pas été poursuivis.

Depuis l'introduction de la mesure de P_H^+ par la méthode colorimétrique, les études sur la marche de la réaction dans les cultures du bacille diphtérique et ses rapports avec la production de toxine ont été reprises par plusieurs auteurs, et les irrégularités constatées dans la production de la toxine ont été de nouveau attribuées à une réaction défavorable. Bunker [8] constate que la *zone de croissance* est très large et s'étend de P_H^+ 5,6 à P_H^+ 8,8. La zone optima est au contraire très étroite. Il la délimite d'après la rapidité avec laquelle apparaît le voile à la surface des cultures. De P_H^+ 7 à 7,5 le voile se forme en douze à quatorze heures; de P_H^+ 6,7 à 7 et de P_H^+ 7,5 à 7,8 en un jour; au delà de ces limites, il met de deux à quatre jours pour se constituer. La toxine n'est très active que pendant un temps très court, un à trois jours, et quand le P_H^+ est entre 7,85 et 8,25; par exemple dans un milieu composé de macération de viande additionnée de peptone de Witte, la toxine tue à 1/100 de cent. cube le quatrième jour ($P_H^+ = 7,92$), à 1/300 le cinquième jour ($P_H^+ = 8,1$), à 1/200 le sixième jour ($P_H^+ = 8,22$) et à 1/100 le huitième jour ($P_H^+ = 8,3$). Si l'alcalinisation se trouve retardée et atteint seulement 7,41 le neuvième jour, le 1/100 de cent. cube n'amène pas la mort

des animaux et c'est seulement au quatorzième jour que l'on tue avec 1/200 de cent. cube. Il est donc nécessaire, d'après Bunker, de saisir le moment fugitif où l'activité de la toxine est à son maximum et d'ajuster exactement le milieu de manière à traverser la zone de P_H^+ 7,8 à 8,2 entre le cinquième et le huitième jour.

Les conclusions de Dernby et Davide [9] sont à peu près les mêmes. Les limites extrêmes de croissance sont P_H^+ 6 et P_H^+ 8,4. L'optimum, d'après la rapidité de formation du voile, est entre P_H^+ 7,2 et 7,6. L'activité de la toxine au huitième jour est fonction de la réaction au départ. Par exemple avec la race Kling B, on obtient les résultats suivants :

P_H^+	Dose mortelle au 8e jour	P_H^+ au 8e jour
7	1/200	7,8
7,2	1/500	8
7,5	1/400	8,2
7,8	1/200	8,5

Quand la réaction initiale est P_H^+ 7,2, l'activité maxima de la toxine est atteinte le huitième jour. Si l'on part d'un milieu plus acide (P_H^+ 6,8) la plus forte toxine est obtenue le onzième jour. D'autre part une réaction trop alcaline atténue la toxine : la toxicité augmente entre le huitième et le onzième jour si P_H^+ passe de 7,5 à 8; elle diminue si P_H^+ monte de 8 à 8,3; mais c'est à partir de 8,3 et surtout de 8,6 que l'influence défavorable de l'alcalinité se fait sentir.

Dans une deuxième publication Davide et Dernby [13] emploient, pour préparer leur milieu, une macération de viande privée de sucre par fermentation sous l'influence de la levure, puis soumise à une digestion trypsique et additionnée finalement de 1,5 p. 100 de peptone. La réaction optima pour la croissance va avec ce milieu de P_H^+ 6,9 à 7,6, plus large que dans le précédent travail de ces auteurs. Pour la production de la toxine on ajuste le milieu à P_H^+ 7,1 — 7,2; la culture est arrêtée le sixième ou septième jour quand la réaction atteint 8,2. Voici la marche d'une expérience, faite dans des tubes à essai, où l'on remarque la variation rapide du pouvoir toxique.

3e jour	$P_H^+ = 7,2$	1/100
4e —	7,5	1/200

5e jour	$P_H^+ = 7,7$	1/333
6e —	7,9	1/2.000
7e —	8	1/2.000
8e —	8,4	1/1.000
9e —	8,6	1/333
10e —	8,7	1/200

Si ces faits étaient vrais dans tous les milieux, ils seraient très importants pour la préparation régulière de toxines très actives. On s'exposerait en effet, d'après ces auteurs, à des mécomptes en se servant pour ajuster la réaction initiale de l'ancienne méthode titrimétrique et du virage de la phénolphtaléine, au lieu d'employer la détermination plus exacte du P_H^+; et l'on risquerait, en arrêtant les cultures à date fixe, de manquer le moment où la toxine est la plus forte.

Il ne semblait pas que le milieu Martin fût aussi sensible à l'influence de la réaction. Pendant treize semaines, nous avons vérifié le P_H^+ du bouillon préparé au Service de Sérothérapie et alcalinisé avec la phénolphtaléine comme indicateur. Il était, au moment de l'ensemencement :

2 fois = 7,5
9 — = 7,7 à 7,8
1 — = 7,9
1 — = 7,95.

Les écarts du P_H^+, sans être considérables, auraient pu se traduire par des variations dans l'activité de la toxine; il n'en a rien été, comme on le voit par le tableau que nous donnons plus loin (tableau III).

III. — Limite de croissance.

Avant d'entrer dans l'étude de la réaction du milieu dans ses rapports avec la production de la toxine, nous dirons quelques mots des « limites de croissance » du bacille diphtérique dans le bouillon Martin. Nous les avons cherchées en cultivant le bacille diphtérique Am. 8 (Park et Williams) dans des ballons contenant 150 cent. cubes de bouillon ajusté à des P_H^+ divers, jusqu'à 9,3 dans la zone alcaline et 5 dans la zone acide.

Les dates d'apparition du voile sont indiquées dans le tableau ci-dessous :

TABLEAU I.

ZONE ALCALINE			ZONE ACIDE		
P_H INITIAL	FORMATION DU VOILE		P_H INITIAL	FORMATION DU VOILE	
	début	complet		début	complet
8,7	1 jour.	1 jour 1/2.	5,7	2 jours.	Presque complet en 3 jours.
8,8 (1)	2 jours.	2 j. 1/2.	**5,6** (1)	Id.	Incomplet (2/3 en 3 jours).
8,9	2 j. 1/2.	3 jours.	5,5	Id.	Id.
9,0	Id.	Id.	5,4	2 j. 1/2.	Id.
9,1	?	3 j. 1/2.	5,3	14 jours.	15 jours (à peu près complet).
9,2	6 j. 1/2.	7 jours.	5,2	21 jours.	22 jours (compl.).
9,3	Pas de voile.	»	5,1	Pas de voile	
			5,0	Id.	

(1) Limites extrêmes de croissance de Bunker.

Quatre jours après l'apparition du voile le P_H^+ des bouillons alcalins était de 8,55 pour le premier, de 8,7 à 8,9 pour les bouillons ajustés de 8,8 à 9,1. Au dix-septième jour le P_H^+ du bouillon à 9,3, dans lequel il n'y a pas eu formation du voile, était à 8,9, indice d'un très léger développement.

Pour les bouillons acides, au quinzième jour après l'apparition du voile P_H^+ oscille entre 8,5 et 8,65; dans les ballons ajustés à 5,1 et 5, dans lesquels le voile ne s'est pas développé, le P_H^+, examiné après six semaines d'étuve, était resté au même taux : en somme il n'y avait pas eu de culture.

Les taux extrêmes d'acide et d'alcali que le bacille a supportés dans nos cultures dépassent un peu les limites de 5,6 et 8,8 indiquées par Bunker, mais en somme ils ne s'en écartent pas beaucoup.

Dans la période qui s'étend entre l'ensemencement et l'apparition du voile, il faut remarquer que la culture se développe en profondeur, faiblement, et modifie peu à peu la réaction du milieu; dès que cette réaction arrive au point permettant le développement rapide, le voile apparaît et la culture, à partir de ce moment, marche comme si le milieu avait été ajusté

primitivement au taux de la réaction qui vient d'être atteinte, sauf modifications dans les propriétés du microbe que nous n'envisagerons pas ici. Cette période de croissance lente, jusqu'au moment où la réaction est ajustée, a été à la limite de croissance du côté alcalin (9,2) de sept jours, et à la limite du côté acide (5,3 et 5,2) de quatorze à vingt et un jours.

IV. — Réaction et production de la toxine.

L'étude des rapports de la réaction avec la production de la toxine dans le milieu Martin nous amènera à une opinion, sur l'importance de la réaction, qui s'écarte en plusieurs points de celle des auteurs cités, et nous permettra de tirer quelques conclusions sur la valeur du milieu employé à l'Institut Pasteur pour la préparation de la toxine diphtérique. Nous avons de plus observé des faits qui n'avaient pas encore été signalés, et dont l'existence pose des questions auxquelles nous espérons que des recherches en cours apporteront une réponse expérimentale.

Technique. — Le mélange de macération de viande et de solution de panse qui constitue le bouillon Martin est ajusté au P_H^+ voulu, chauffé une première fois à l'autoclave, filtré sur papier, et placé dans de larges ballons à fond plat (ballons Fernbach) à raison de 1.200 cent. cubes environ par ballon (1).

Pour faire des prélèvements journaliers, sans risque de contamination, on enfonce le coton dans le col du ballon et dispose au-dessus un bouchon de caoutchouc qui porte un tube en siphon dont une branche traverse le coton et plonge dans le liquide, tandis que l'autre se termine par une longue effilure fermée à la lampe. Un second tube coupé juste au-dessous du bouchon de caoutchouc, et muni d'un coton, permet de souffler doucement pour amorcer le siphon ou d'aspirer pour ensemencer par l'effilure.

Avant d'ensemencer, on fait un premier prélèvement pour vérifier le P_H^+, qui a pu changer à la stérilisation. Certains

(1) Dans les cultures en petits ballons, sur 100 cent. cubes par exemple, et à plus forte raison en tubes, les changements de la réaction sont plus rapides, et la production de la toxine est moins régulière.

auteurs ont observé, en effet, des variations très sensibles de la réaction pendant le chauffage à l'autoclave. Sur une série de 21 ballons, de P_H^+ 5,8 à 9, que nous avons ajustés avant la stérilisation et vérifiés après, 8 n'ont pas varié; 1 a changé, dans le sens de l'acidité, de P_H^+ 0,05; 7 de P_H^+ 0,1; 2 de P_H^+ 0,2; 2 de P_H^+ 0,25; 1 enfin est passé de P_H^+ 6,8 à 6,9. Dans d'autres titrages portant sur les 50 litres de bouillon préparé chaque semaine pour le Service de Sérothérapie, nous avons vu quelquefois le P_H^+ rester le même, d'autres fois il baissait de 0,1 à 0,2, exceptionnellement jusqu'à 0,4. On se rend compte qu'il ne peut pas y avoir de régularité dans ces variations en analysant leurs causes : 1° si le milieu est riche en sels ammoniacaux et fortement alcalin, il perd de l'ammoniaque; par exemple pour une culture âgée de trente jours l'ammoniaque, calculée en NH^3 par litre, passe à la stérilisation de 490 milligrammes à 388 milligrammes; dans un autre cas analogue de 371 milligrammes à 238 milligrammes; 2° il peut aussi se former de l'ammoniaque par réaction de certains éléments du milieu sur les protéiques; ainsi un bouillon (non ensemencé) contenait 263 milligrammes de NH^3 par litre avant la stérilisation et 297 milligrammes après; 3° si le milieu contient de l'anhydride carbonique libre ou des bicarbonates alcalins ou alcalino-terreux, il s'alcalinise par perte de CO^2; même fait pour les autres acides volatils; 4° l'équilibre qui maintenait en solution des ions phosphate et des ions Ca ou Mg sous la forme de sel secondaire est détruit à la température de stérilisation; il se précipite des sels tribasiques, pendant qu'il reste en solution des sels monobasiques, à réaction acide; 5° les sucres, ou matières amylacées faciles à saccharifier, fournissent des produits acides, si le milieu est franchement alcalin; 6° les peptones subissent un certain degré d'hydrolyse, qui multiplie les groupes COOH ou NH^2 libres, et par suite augmente l'action de tampon de ces substances. Cette énumération n'épuise certainement pas la liste des facteurs qui interviennent pour modifier le P_H^+. Ils se compensent plus ou moins. On comprend que le résultat doit dépendre dans chaque cas particulier de la composition du milieu, des fermentations qu'ont subies ses éléments, de la réaction choisie, de la température et de la durée du chauffage. Cependant il est vraisemblable que les

changements soient d'autant plus accentués qu'on s'éloigne davantage de la neutralité.

Tous les jours pendant une douzaine de jours, moins fréquemment ensuite, on prélevait du liquide de culture et mesurait le P_H^+ après filtration sur bougie Chamberland L. 3. Nous nous sommes assurés que cette filtration sous une aspiration très faible (5 à 10 centimètres de Hg) ne modifiait pas le P_H^+. Les mesures étaient faites par la méthode colorimétrique, avec l'échelle de Clark et Lubs. Un certain nombre de lectures ont été contrôlées par la méthode électrométrique ; les différences étaient en moyenne inférieures à 0,05 et c'est généralement la méthode colorimétrique qui donnait le chiffre le plus haut quand il n'y avait pas concordance parfaite.

Périodiquement (voir le tableau II) nous avons pratiqué des inoculations au cobaye pour connaître la valeur de la toxine.

Les animaux employés pesaient en général 350 grammes; dans les cas où le poids était différent, on calculait la quantité de toxine à injecter de manière que son rapport au poids du cobaye soit le même que celui du taux envisagé au poids de 350 grammes. Toutes nos doses mortelles de toxine doivent être multipliées par 1,4 pour donner la dose qui tue le cobaye de 250 grammes; la dilution 1/700 devient ainsi 1/1.000 environ. Nous n'avons tenu compte que des animaux morts au plus tard le cinquième jour après l'inoculation. Au delà de ce délai, les lésions caractéristiques de l'intoxication diphtérique aiguë manquent toujours. Déjà au cinquième jour, elles sont incomplètes; si l'on observe encore une légère congestion des capsules surrénales, l'épanchement pleural et la congestion pulmonaire font défaut. On peut dire que l'intoxication dipthtérique ne fait sa preuve, à de rares exceptions près, que chez les cobayes morts dans les quatre-vingt-seize heures qui suivent l'inoculation. Ces cas sont donc les seuls qui puissent servir de mesure précise à l'activité des toxines.

*
* *

Le but de nos premiers essais était de comparer la production de toxine dans le bouillon Martin, ajusté à P_H^+ 7,8 correspondant au taux moyen d'alcalinisation employé dans le

laboratoire (voir tableau III), et dans le bouillon ajusté à P_H^+7, titre correspondant au taux d'alcalinisation que l'on obtenait, en moyenne, autrefois à l'Institut Pasteur en ajoutant 7 cent. cubes de soude normale par litre après neutralisation au tournesol.

Nous avons observé un léger retard dans la formation du voile, douze heures environ, dans les ballons à P_H^+ 7,8, par rapport à P_H^+ 7; retard plus marqué quand le P_H^+ initial est au-dessus de 7,8 (voir fig. 3). En outre l'aspect du voile est

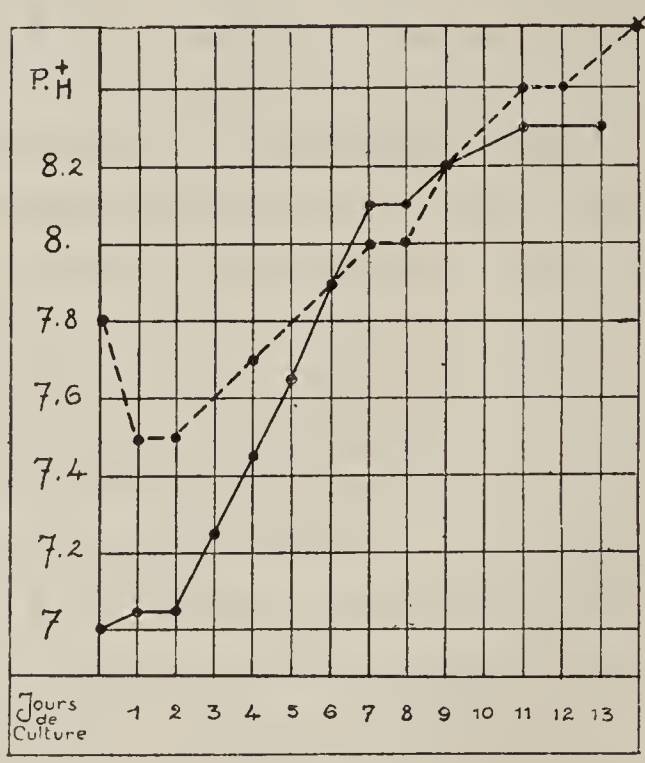


Figure 1.

différent. A 7 et au-dessous il est blanc, craquelé, tombe par petits fragments et se reforme mal. Autour de 7,8 il est épais, lourd, semi-transparent; il se fend suivant de larges scissures traversant tout le ballon, tombe en se repliant sans se fragmenter, et se reforme bien.

Pour donner à cet aspect physique des cultures son importance réelle, il faut remarquer que le bacille employé est entraîné depuis plusieurs années à une alcalinité voisine de P_H^+ 7,8 et que c'est le même germe qui brusquement a été transporté dans un bouillon à P_H^+ 7 ; ajoutons que ces différences n'impliquent pas nécessairement que la toxine ne soit pas produite aussi abondamment dans les deux cas, on le verra par la suite.

La marche de la réaction dans les bouillons à P_H^+ 7 et 7,8 n'est pas la même dans les premiers jours (fig. 1).

En partant de 7 elle monte légèrement ou ne varie pas pendant vingt-quatre heures; puis ascension régulière qui amène le P_H^+ à 7,4-7,6 le quatrième jour.

En partant de 7,8 baisse pendant un ou deux jours jusque vers 7,5, puis ascension lente pour arriver à 7,6-7,7 le qua-

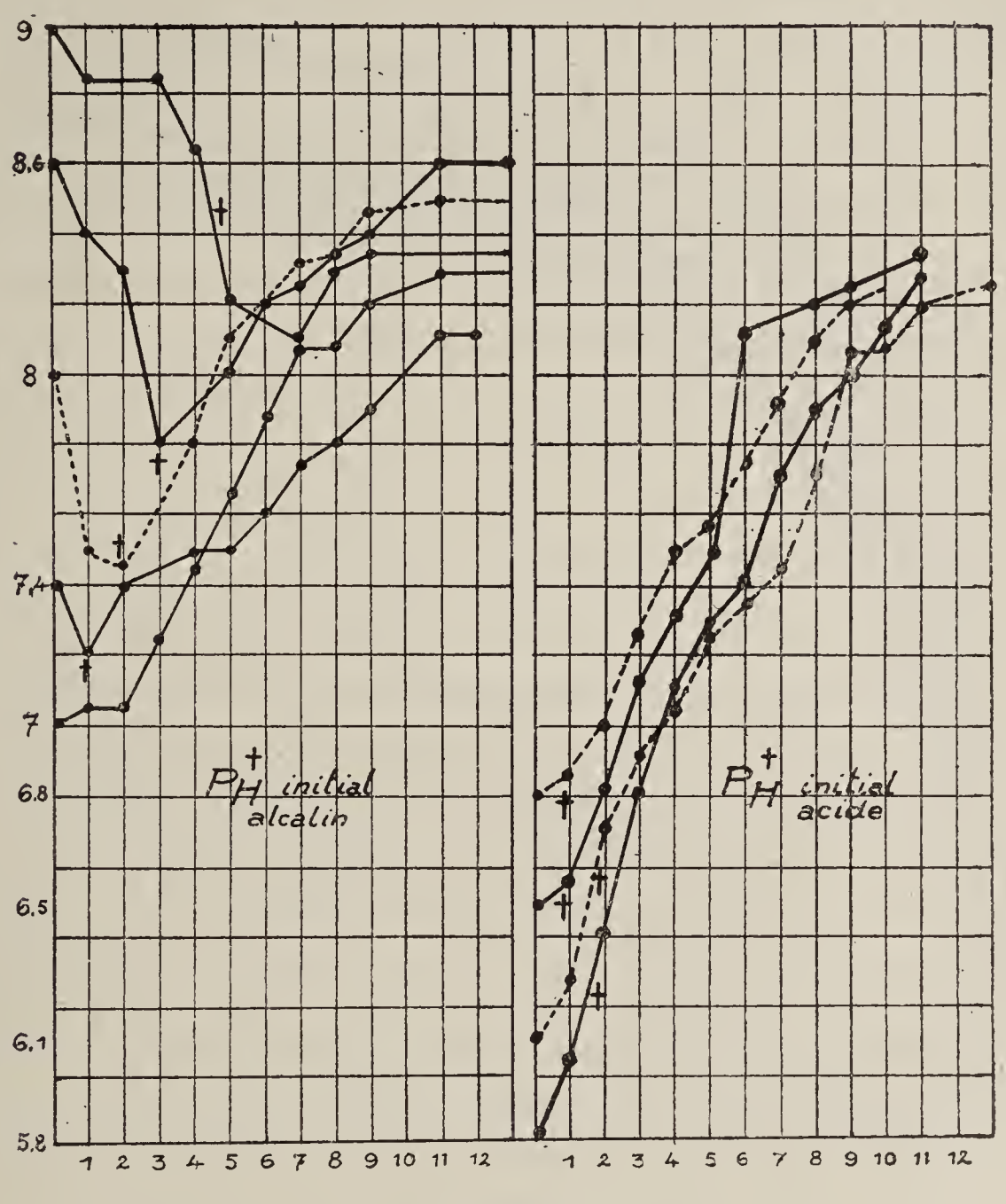


FIGURE 2.
(Les signes + indiquent l'apparition du voile).

trième jour. Les graphiques des deux milieux tendent ensuite à se rapprocher; souvent ils se confondent ou même se croisent du sixième au onzième jour.

L'opposition s'accentue pendant les premiers jours si l'on ajuste le milieu à une réaction plus acide que 7 ou plus alcaline que 7,8 (fig. 2). L'ascension est plus rapide dans les ballons plus acides, qui passent de 6 à 7 en quatre jours; la chute est

plus forte dans les ballons plus alcalins; 8,6 par exemple tombe à 7,8 en trois jours.

De plus la période d'acidification est d'autant plus longue que l'alcalinité initiale est plus forte, parce que le départ de la

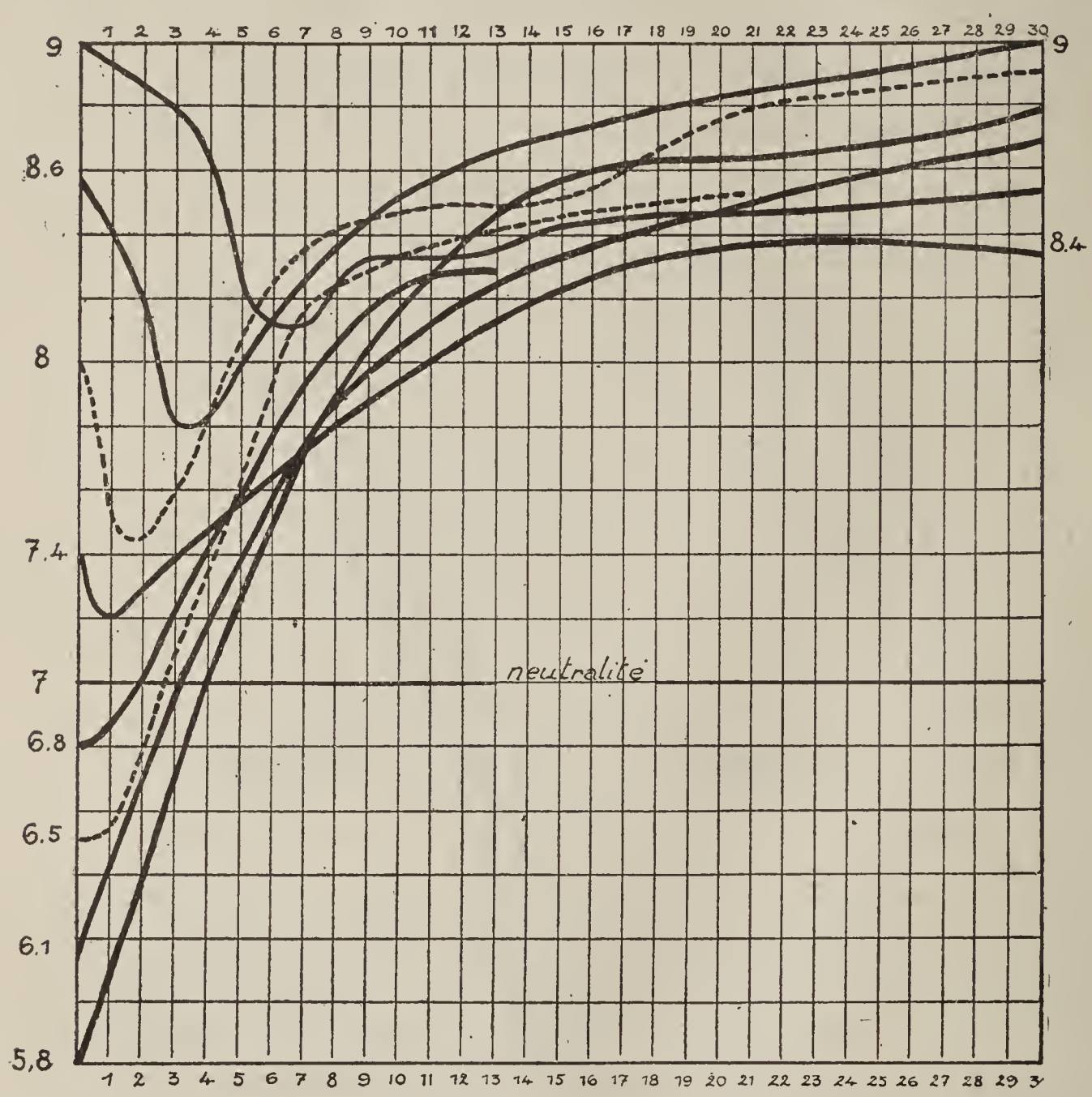


FIGURE 3.

culture est plus lent et la production du voile plus tardive. L'angle des graphiques qui marque le changement de réaction se déplace vers la droite à mesure que le P_H^+ initial est plus haut.

Vers le onzième jour, au moment de la récolte de la toxine, les différences de P_H^+ sont faibles; la réaction oscille entre 8,15 et 8,35, exceptionnellement 8,6. Les courbes de la figure 3 indiquent la marche générale de la réaction pendant un mois, avec un P_H^+ initial variant de 5,8 à 9.

Il semble que le bacille diphtérique ait le pouvoir de corriger la réaction du milieu en créant des conditions plus favorables à son développement. Nous ne nous arrêterons pas à cette interprétation qui ferait appel à la cause finale pour expliquer des phénomènes biochimiques. Mais il serait fort intéressant de montrer que la nutrition du microbe ne s'alimente pas des mêmes substances, ou n'aboutit pas aux mêmes produits de désintégration, selon que le milieu est acide ou alcalin. Nous avons commencé l'étude de cette question, et tiré des premières expériences d'orientation un aperçu nouveau sur les facteurs principaux de l'acidification et de l'alcalinisation.

D'abord la réaction à un moment donné n'est qu'une différence entre l'acide et l'alcali produits par les échanges nutritifs du microbe. Elle évolue vers l'alcalinisation ou l'acidification selon que l'un l'emporte sur l'autre; et c'est précisément parce que les deux contraires s'accroissent concurremment que l'on observe dans les courbes de la réaction des inflexions, des paliers : il n'y a pas arrêt de l'activité, mais avance momentanée de l'acide sur l'alcali, ou réciproquement. Ces faits, qui ont probablement un caractère général, ont été jusqu'à présent complètement négligés lorsqu'on parle de l'action d'un microbe sur un milieu. On dit qu'il alcalinise, ou qu'il acidifie; mais souvent les bactériologistes sont désorientés par des réactions incertaines, ou même inversées. Ce n'est pas le microbe qui change de propriété, c'est seulement un facteur qui devient prépondérant, alors que dans les conditions les plus fréquentes il était au second plan. Ainsi dans nos cultures pendant que le P_H^+ passe, en quatre jours, de 8,6 à 7,9, l'ammoniaque libérable par distillation sur MgO augmente de 62 milligrammes par litre (127 à 189), à peu près dans les mêmes proportions que lorsque le milieu s'alcalinise de 5,9 à 7,05.

Mais il y a parallèlement une production d'acide qui masque celle d'ammoniaque. Il est possible, nous n'avons pas encore vérifié le fait, qu'il y ait de même dans les milieux ajustés à P_H^+ 6 ou 7, qui ne présentent pas de phase d'acidification, une production d'acide qu'une quantité plus forte d'alcali nous empêche de discerner.

Il est classique d'attribuer l'alcalinisation des cultures à la

TABLEAU II.

Activité de la toxine diphtérique dans le milieu Martin ajusté à des P_H^+ compris entre 5,8 et 9.

RÉACTION INITIALE	CULTURE de	RÉACTION au moment DE L'ESSAI	DOSE MORTELLE	MORT EN
	Jours			
5,8	4	7,1	1/100	Survit.
	8	7,9	1/100	Survit.
	14	8,4	1/10	2 j. 1/2
6,1	4	7,05	1/200	Survit.
	11	8,2	1/100	Survit.
6,3	4	7,2	1/200	1 j. 1/2
	7	7,6	1/300	4 jours
	25	8,4	1/100	2 j. 1/2
6,3	4	7,1	1/200	3 j. 1/2
	11	8,25	1/200	4 j. 1/2
	30	8,9	1/100	3 j. 1/2
6,5	4	7,35	1/200	Survit.
	11	8,35	1/200	2 j. 1/2
	30	8,85	1/100	4 j. 1/2
6,8	5	7,55	1/500	2 jours
	8	8,1	1/700	2 j. 1/2
	11	8,25	1/700	Survit.
	21	8,7	1/500	4 j. 1/2
	31	8,65	1/200	4 jours
6,9	1	6,9.	1/10	2 j. 1/2
	4	7,4	1/300	3 jours
	7	7,7	1/700	4 jours
	30	8,5	1/300	2 j. 1/2
7	5	7,65	1/500	2 jours
	8	8,1	1/700	3 j. 1/2
7,05	1	7,2	1/10	1 j. 1/2
	2	7,3	1/50	1 j. 1/2
	4	7,6	1/500	2 j. 1/2
	6	7,8	1/500	3 jours
	12	8,4	1/500	3 jours

RÉACTION INITIALE	CULTURE de	RÉACTION au moment DE L'ESSAI	DOSE MORTELLE	MORT EN
	Jours			
7,4	1	7,2	1/10	2 j. 1/2
	4	7,5	1/300	2 j. 1/2
	7	7,75	1/500	2 j. 1/2
	12	8,15	1/700	4 j. 1/2
7,7	1	7,5	1/10	2 j. 1/2
	4	7,75	1/700	2 j. 1/2
	7	7,95	1/700	5 jours
	12	8,3	1/500	2 j. 1/2
	30	8,7	1/300	2 j. 1/2
7,8	1	7,5	1/10	4 j. 1/2
	4	7,7	1/300	2 j. 1/2
	7	8	1/700	3 j. 1/2
	30	8,7	1/300	4 j. 1/2
7,9	4	7,6	1/300	2 jours
	8	8,2	1/500	2 j. 1/2
8,2	4	7,9	1/300	2 j. 1/2
	7	8,2	1/500	2 j. 1/2
	25	8,4	1/300	2 j. 1/2
8,6	4	7,9	1/500	3 j. 1/2
	8	8,35	1/700	4 j. 1/2
	14	8,7	1/500	2 jours
	30	9	1/200	1 j. 1/2
9	4	8,65	1/10	Survit.
	6	8,15	1/300	4 j. 1/2
	11	8,35	1/300	1 j. 1/2

désamination des protéiques, qui met en liberté de l'ammoniaque. Plusieurs auteurs cependant ont indiqué, sans grands détails, que ce facteur n'est pas le seul. Dans nos cultures il n'est même pas le plus important. Nous nous en sommes rendu compte de deux manières :

1° Si l'on calcule d'une part la quantité d'ammoniaque qu'il faut ajouter au bouillon avant l'ensemencement pour l'amener à une alcalinité donnée, P_H^+ 8,5 par exemple, et que l'on dose d'autre part la quantité d'ammoniaque qui s'est formée dans la culture entre le départ et le moment où elle a atteint ce P_H^+, on trouve entre les deux chiffres un écart considérable, qui révèle un déficit en ammoniaque dans la culture. Les deux exemples suivants représentent l'un une différence faible, l'autre une différence forte (car les chiffres varient beaucoup d'une culture à l'autre), en milligrammes de NH^3 par litre.

Ammoniaque formée	215	Calculée	323
—	325	—	588

L'alcalinité qu'il faut rapporter à une autre cause que l'ammoniaque est encore plus importante que ne l'indiquent ces chiffres, puisque ces dosages, dans lesquels l'ammoniaque était estimée par distillation sur MgO, nous donnaient la totalité des sels ammoniacaux, et pas seulement l'ammoniaque libre qui seule influe sur le P_H^+. La différence est de 1/10 à 1/4, à retrancher.

2° Supposant que l'alcalinité était due pour une part à la formation de carbonate de soude, nous avons préparé un bouillon qui contenait un minimum de sels de soude, c'est-à-dire seulement ceux qui provenaient de la viande et des panses de porc. Nous avons remplacé dans la digestion pepsique de la panse l'acide chlorhydrique par l'acide sulfurique, qu'il était facile d'éliminer par la baryte, puis amené le milieu à la réaction voulue par addition d'ammoniaque au lieu de soude. Puis nous avons placé comparativement dans des dessiccateurs 20 cent. cubes de culture du trentième jour sur le bouillon ordinaire d'une part, et sur ce bouillon sans soude d'autre part. Ces liquides étaient additionnés de 1 cent. cube de solution à 10 p. 100 de cyanure de mercure, pour éviter les fermentations, et surmontés de capsules contenant de l'acide sulfurique N/10,

comme pour faire un dosage de l'ammoniaque par la méthode à la cloche de Schlœsing. Les dessiccateurs sont restés à l'étuve à 36° jusqu'à ce que l'acide sulfurique, plusieurs fois renouvelé, n'absorbe plus d'ammoniaque. Or pour le bouillon ordinaire le P_H^+ qui était de 9 avait passé à 8,7 après élimination de NH^3; le bouillon sans soude (ou plutôt pauvre en Na) était tombé de 8,75 à 7,25. Du reste la quantité de NH^3 recueillie sur SO^4H^2 était plus élevée dans le premier cas que dans le second.

Sur l'origine du carbonate de soude nous n'avons encore qu'une hypothèse, que nous nous proposons de vérifier; il proviendrait des sels de soude d'acides organiques, acétates, butyrates, etc., que le bacille diphtérique transformerait en carbonates, comme le ferait une calcination. Par l'examen des quantités d'ammoniaque formées dans les divers segments de la courbe d'alcalinisation, on voit que ce facteur joue dans la zone de P_H^+ 6 à 7, et aussi au-dessus de 8. Il faut donc en entreprendre l'étude approfondie pour se faire une idée exacte de son intervention. Remarquons toutefois que ces sels n'existent qu'en petite quantité, et peut-être à la faveur surtout de notre mode spécial de préparation de la macération de viande. Ils joueraient alors un rôle important dans le succès du milieu que nous employons, et nous connaîtrions une des raisons pour lesquelles nos résultats diffèrent de ceux des autres auteurs.

Nous avons aussi des indications intéressantes sur la nature de l'acidification que nous observons dans les milieux dont l'alcalinité dépasse 7,3 à 7,4 environ. Elle pourrait bien être différente de celle que l'on obtient, quelle que soit la réaction initiale, dans les milieux qui contiennent du sucre ou des substances saccharifiables. Il est certain, comme on le verra plus loin par les expériences dans lesquelles nous avons essayé d'ajuster de la toxine filtrée à divers P_H^+, qu'il s'accumule du CO^2 dans les cultures. Si le milieu est acide, une faible proportion reste à l'état de H^2CO^3 et apporte au milieu une très légère acidité; le reste est dissous sous la forme CO^2 et n'influe pas sur la réaction; le gaz carbonique se dégage peu à peu dans l'atmosphère. Si au contraire le milieu est alcalin, il forme du carbonate, puis du bicarbonate, et par suite l'alcalinité diminue. Les expériences directes que nous instituons pour

démontrer ces faits ne sont pas terminées ; mais nous savons que lorsque l'on arrête une culture, dès le onzième jour elle contient tout l'alcali nécessaire pour porter le P_H^+ à 9, bien que la réaction soit régulièrement 8,4 à 8,55 au plus. Il suffit de filtrer sur bougie Chamberland et de mettre vingt-quatre heures à l'étuve pour obtenir le $P_H^+ = 9$. Si l'on adapte au ballon contenant la toxine filtrée un tube qui va plonger dans une solution de baryte, en milieu bien clos, on peut recueillir du carbonate de baryte. Dans une expérience rapide d'orientation, nous avons obtenu une quantité de CO^2 correspondant à 131 milligrammes par litre, pendant que le P_H^+ passait de 8,55 à 9. Ces constatations n'épuisent pas la question. Il faut montrer que CO^2 est produit dès les premiers stades de la culture, chercher s'il est le seul acide qui apparaisse dans les milieux à réaction initiale alcaline, et bien d'autres problèmes dont l'ensemble sollicite notre curiosité. Nous croyons cependant qu'une place importante devra être faite à l'acide carbonique.

TABLEAU III.

	P_H INITIAL	ESSAI DE LA TOXINE au 11e jour			P_H INITIAL	ESSAI DE LA TOXINE au 11e jour	
		dose	mort en			dose	mort en
9 mai 1921.	7,7	1/500 1/700	2 jours 1/2. 6 jours.	27 juin.	7,75	1/500 1/700	2 jours. 4 jours.
16 mai.	7,9	1/300 1/500	2 jours. 2 jours 1/2.	4 juillet.	7,75	1/500 1/700	2 jours 1/2 4 jours.
23 mai.	7,8	1/400 1/700	1 jour 1/2. 4 jours.	11 juill.	7,8	1/500 1/700	3 jours 1/2 6 jours.
30 mai.	7,9	1/500 1/700	2 jours 1/2. 3 jours.	18 juill.	7,8	1/500 1/700	2 jours 1/2. 3 jours 1/2.
13 juin.	7,75	1/500 1/700	3 jours 1/2. 6 jours 1/2.	25 juill.	7,55	1/500 1/700	2 jours 1/2. 3 jours.
20 juin.	7,75	1/500 1/700	3 jours. 3 jours 1/2.	1er août.	7,55	1/500 1/700	3 jours 1/2. 6 jours.

Disons aussi que nous n'attribuons aucune valeur aux variations de P_H^+ que nous avons observées dans les cultures au delà du terme 8,5 environ; elles peuvent provenir non pas d'une production nouvelle d'alcali, mais seulement du départ occasionnel de CO^2.

Il résulte de cet ajustement de la réaction par le bacille diphtérique, cultivé en bouillon Martin, que l'activité de la toxine que nous obtenons est sensiblement la même (0,002 à 0,0014) vers le 7e-8e jour, quand le P_H^+ initial est compris entre 6,8 et 7,8 (tableau II).

De P_H^+ 6,8 à 7,1 sur cinq expériences trois fois la toxine tuait au 1/700 de cent. cube, et deux fois au 1/500 en deux jours et demi (limite mortelle environ 1/600).

Sur trois expériences de 7,7 à 7,9, la toxine tuait deux fois au 1/700, et une fois au 1/500 en deux jours et demi; pour cette même zone de P_H^+, qui correspond à l'alcalinité habituelle du bouillon préparé au laboratoire, le tableau ci-dessus donne la valeur de la toxine et le P_H^+ initial, pendant douze semaines.

Au moment de l'activité maxima de la toxine, du quatrième au huitième jour, la réaction est entre 7,7 et 8,3, zone un peu plus large que celle de Bunker et Dernby.

Examinons ce qui se passe en dehors de la zone 6,8 à 7,8.

Milieux alcalins. — Avec un P_H^+ de 8,6 au départ, la réaction descend à 7,9 le quatrième jour; déjà 1/500 de toxine tue en trois jours et demi; le huitième jour la réaction est remontée à 8,35 et la toxine tue au 1/700; en somme production de toxine aussi rapide et aussi forte qu'en partant de 7 ou 7,8. Si le P_H^+ initial est 9, la courbe descend à 8,6 au quatrième jour; à ce moment le voile commence à peine à se former, le liquide filtré ne tue pas au 1/10 de cent. cube. Au sixième jour le P_H^+ est à 8,15 et la toxine tue au 1/300; le voile est complet depuis trente-six heures et la baisse du taux d'alcalinité n'est pas encore terminée (voir fig. 2). Dans la zone alcaline 8,6 paraît être la limite au delà de laquelle il se forme très peu de toxine; de plus une partie de la toxine formée est probablement détruite; nous reviendrons plus loin sur ce point.

Milieux acides. — Avec P_H^+ 6,8 au départ, la toxine présente

encore son maximum d'activité vers le huitième jour (1/700 tue en deux jours et demi). Pour une acidité de 5,8 à 6,1 il ne se forme qu'une petite quantité de toxine, de l'ordre de 1/10 de centimètre cube. Si P_H^+ initial est 6,3 ou 6,5, la toxine formée ne tue pas au delà du 1/200 depuis le quatrième jour, sauf une fois au 1/300 le septième jour. Cependant en partant de 6,5, le voile est bien formé à la fin du premier jour ; le deuxième jour P_H^+ est à 6,8, réaction qui permet, comme nous l'avons vu ci-dessus, une production de toxine très active. La valeur P_H^+ 6,8 paraît donc être un seuil au-dessous duquel le bacille ne trouve pas les conditions favorables au développement de sa fonction toxigène. Mais de plus, et c'est là le fait intéressant, qui n'avait pas encore été entrevu, et qui peut devenir un point de départ nouveau, pour étudier l'origine de la toxine, *il suffit que le bacille diphtérique ait végété deux jours à deux jours et demi au-dessous de* 6,8, *réaction à laquelle la multiplication des germes n'est en apparence pas entravée, pour qu'il soit incapable de fournir plus tard entre* 6,8 *et* 8,4 *une bonne toxine.* En se reportant à nos courbes on verra que même lorsque le P_H^+ initial est 5,8 à 6,1 et que l'activité de la toxine obtenue ne dépasse jamais 1/10 de centimètre cube, la réaction à la fin du troisième jour de culture est déjà 6,7 à 6,9.

On peut se demander si ce n'est pas l'acidité du milieu qui détruit la toxine à mesure qu'elle est produite. Cette question nous a amenés à étudier l'influence de l'alcalinité et de l'acidité sur la toxine, en ajustant à une réaction acide ou alcaline choisie de la toxine recueillie au onzième jour et filtrée sur bougie, expérience très simple en apparence, mais en fait très difficile à réaliser. Partant d'une toxine dont le P_H^+ était 8,45, nous avions déterminé par un titrage les quantités d'acide chlorhydrique N/10 à ajouter pour obtenir des $P_H^+ = 7,65$ et 6. Puis nous avions placé vingt-quatre heures à l'étuve à 37° des portions de 20 cent. cubes de toxine, pour nous assurer qu'elles avaient été réparties sans contamination ; et nous avions ensuite introduit dans les ballons les quantités calculées de HCl, stérilisées au préalable en tube scellé. Lorsque après quelques jours d'étuve nous avons voulu essayer l'activité des toxines ainsi traitées, nous avons constaté que le P_H^+ avait varié de la manière suivante :

	P_H^+
Toxine + 2 c.c. eau distillée.	8,65
— ajustée à $P_H^+ = 7$.	8,3
— — $= 6,5$.	7,3
— — $= 6$.	6,3

Une série d'essais montrait ensuite que la toxine dont le P_H^+ au onzième jour est régulièrement 8,45 à 8,55 passe à 8,7 après quatre ou cinq jours de séjour à la glacière, et généralement à 9 après vingt-quatre heures seulement à l'étuve. En même temps le séjour à l'étuve, sans addition de réactifs destinés à modifier le P_H^+, c'est-à-dire en somme à la réaction $P_H^+ = 9$, atténue immédiatement la toxine dans de fortes proportions, la dose mortelle tombe en moyenne de 1/700 à 1/200.

C'est évidemment à l'existence de CO^2 libre, et de bicarbonate, qu'il faut attribuer ces variations de P_H^+. Lorsqu'on ajoute de l'acide chlorhydrique, on décompose les bicarbonates et l'acide carbonique, auquel les indicateurs colorés de la série de Clark et Lubs sont très sensibles, ne s'échappe que lentement du milieu. Nous avons donc cherché à déterminer les quantités d'acide à ajouter pour obtenir un P_H^+ donné, en chassant au fur et à mesure CO^2 par ébullition dans le vide. L'opération a l'allure suivante. On part de 25 ou 30 cent. cubes de toxine, ajuste à un P_H^+, chasse CO^2, prélève 5 cent. cubes pour vérifier la réaction obtenue et calcule par un nouveau titrage l'acide à ajouter, chasse à nouveau CO^2 après cette addition, etc... Exemple pour 5 cent. cubes.

	Hcl ajouté	P_H^+		P_H^+
1.	1 c.c. 25 N/10. . .	7	Chassé CO^2 .	7,3
2.	0 c.c. 35	6,8	—	7,15
3.	0 c.c. 3	6,8	—	6,95
4.	0 c.c. 15	6,8	—	6,9
5.	0 c.c. 1	6,8	—	6,8

On voit qu'il a fallu cinq additions successives d'acide pour arriver à une réaction stable, en apparence encore. En effet, nous ajoutons à 20 cent. cubes de toxine la quantité totale d'acide déterminée par les essais successifs ; nous relions à une trompe qui ne laisse subsister qu'une pression de 10 à 15 millimètres de mercure, pendant quinze minutes, en plongeant le ballon dans un bain-marie à 35° dès que le dégagement

gazeux n'est plus tumultueux, et nous mettons à l'étuve à 37°. Pour des échantillons ajustés à $P_H^+ = 6$, la réaction devient encore $P_H^+ = 6,15$ au bout de six heures, 6,15 après vingt-quatre heures, 6,25 à 6,3 après deux jours et quatre jours. Il semble y avoir encore soit un peu de CO^2 énergiquement retenu dans le milieu pendant l'action du vide, soit d'autres acides qui, à la température de l'étuve et sous l'influence des protéiques, sont neutralisés ou passent à un état moins dissocié. Toujours est-il que nous ne sommes pas encore en mesure de soumettre une toxine pendant quatre ou cinq jours à 37° à l'action d'une acidité ou d'une alcalinité rigoureusement déterminées. Nous avons l'intention de reprendre en détail l'étude de la baisse de la toxicité pendant les premières heures et les premiers jours après la filtration de la toxine, à l'étuve et à la glacière ; la pénurie d'animaux rend ce travail un peu difficile. Il nous semble que le séjour de vingt-quatre heures dans l'étuve, auquel nous soumettions la toxine avant de l'ajuster, pour nous assurer qu'elle a été répartie sans contamination, suffit déjà à l'atténuer notablement. La baisse de la toxicité qui se produit ensuite sous l'influence des diverses alcalinités que nous avons essayées, c'est-à-dire avec un P_H^+ de 8 à 9, existe, mais n'est pas considérable. Entre 7 et 7,5 la toxine paraît se conserver mieux ; nous n'avons pas répété l'expérience assez souvent pour être certains que les résultats que nous avons observés sont constants. Quant à l'influence de l'acidité, entre 6 et 6,4 environ, elle n'a rien de brutal ; nous avons obtenu deux fois de la toxine qui tuait à 1/200 après une semaine de séjour à l'étuve entre 6 et 6,3. Il n'est pas possible que ce soit la destruction de la toxine par l'acidité qui empêche d'obtenir une toxine tuant à plus de 1/10 de centimètre cube quand le P_H^+ initial est 6,1. Du reste lorsque la réaction initiale est ajustée entre 6,8 et 7,8, on obtient après vingt-quatre heures une toxine qui tue à 1/10 de centimètre cube ; après quarante-huit heures, elle ne tue encore qu'à 1/50, et c'est seulement entre le deuxième et le quatrième jour que le taux s'élève vivement. Il n'aurait donc pas pu se former beaucoup de toxine pendant la courte période où le P_H^+ des milieux acides est au-dessous de 6,5 à 6,8.

Nous restons donc en présence de ce fait inattendu : dans un

milieu où le bacille diphtérique a végété pendant deux ou trois jours avec une réaction dont le $P\frac{+}{H}$ est inférieur à 6,8 environ, il est impossible d'obtenir une production normale de toxine, même lorsque la réaction est devenue la plus favorable. Est-ce le bacille qui a perdu la propriété de « sécréter » la toxine? Est-ce le milieu qui ne lui fournit plus l'élément dont il fabrique la toxine, élément qui n'existerait dans le milieu qu'en quantité limitée? La question ainsi posée est très importante, car elle nous amène à chercher la solution de l'origine de la toxine diphtérique. Est-elle un produit de sécrétion ou d'excrétion du microbe, résultat fatal de la vie microbienne quel que soit l'aliment offert, ou bien tire-t-elle son origine d'un élément du milieu que le bacille amène à un stade déterminé de désintégration ou de transformation?

*
* *

Dans la description classique de la marche des cultures du bacille diphtérique, on disait qu'il y avait une première phase d'acidification, pendant laquelle il se forme peu ou pas de toxine; puis que après quelques jours la production d'acide cesse pour faire place à une alcalinisation progressive, la toxine augmentant d'activité à partir du moment où la marche de la réaction est renversée. Cette description est peut-être exacte pour certains milieux et avec certaines réactions initiales. Nous avons vu que si l'on apprécie la réaction par la mesure du $P\frac{+}{H}$, on peut ne pas observer de phase d'acidification. De plus il se forme de la toxine, dans certaines zones, pendant que le milieu s'acidifie ; par exemple pendant que le $P\frac{+}{H}$ passait de 8,6 à 7,9, nous avons obtenu en quatre jours une toxine qui tuait à 1/500, exactement comme dans le cas où le $P\frac{+}{H}$ passe de 6,8 à 7,55. Ce n'est donc pas le fait de l'alcalinisation en lui-même qui est la condition d'une bonne production de toxine. Il se pourrait toutefois que l'apparition de la toxine fût liée à des processus biochimiques dont la formation de produits à réaction alcaline serait un des stades, mais que dans le cas que nous venons de citer ces produits fussent neutralisés par les acides formés en même temps.

La meilleure toxine est en général recueillie vers le septième-

huitième jour, quelquefois dès le quatrième, quelquefois seulement le onzième ou douzième jour. Mais ces variations ne sont pas liées à la réaction initiale de la culture, ni au P_H^+ établi au moment de la récolte. Si l'on se reporte au tableau des essais de toxine que nous donnons ci-dessus (tableau II), on verra que dans presque toutes les expériences la production de la toxine suit une marche uniforme. Elle est faible au début ; en deux jours, on ne dépasse guère une toxicité telle que la dose qui tue en quatre jours, soit 1/50 de centimètre cube. C'est la période d'enrichissement de la culture et de formation du voile. Puis, comme l'ont bien montré Moloney et Hanna [14], le nombre des germes augmente peu ; mais l'activité de la toxine croit brusquement, en deux jours elle passe du 1/50 en général au 1/500. Elle continue à progresser faiblement jusque vers le huitième jour, où elle atteint le 1/700, et baisse ensuite légèrement après le douzième jour. Il y a, sur notre milieu, entre le septième et le onzième jour un plateau qui peut commencer un peu plus tôt. La baisse est lente en général jusqu'au quinzième jour, quelquefois jusqu'au vingtième jour. Du vingtième au trentième jour le titre reste encore 1/300 en moyenne, quelquefois 1/200. Mais, dans cette période, il est en partie sous la dépendance de la réaction, qui se maintient autour de 8,5 si le milieu retient assez de CO^2, et qui s'alcalinise plus fortement si CO^2 s'échappe. L'influence défavorable de la réaction est-elle partiellement compensée par une faible production de toxine ? Il ne semble pas, d'après une expérience où nous avons comparé la toxicité de la culture au trentième jour, avec celle du liquide du même ballon prélevé au treizième jour, filtré sur bougie et conservé à l'étuve ; le résultat était le même des deux côtés.

CONCLUSIONS

La condition essentielle pour préparer une toxine diphtérique très active est de posséder un *bon milieu*. Si l'on n'obtient avec certains milieux que des résultats irréguliers, ce n'est pas parce que la réaction initiale est mal ajustée, c'est parce que la composition du milieu n'est pas parfaite. Non seulement la

quantité de substances hydrocarbonées susceptibles d'être transformées en acides a une importance capitale, mais la préparation et la concentration de la peptone, le degré et le mode de putréfaction de la viande jouent un rôle décisif.

Le milieu Martin, ajusté à une réaction qui varie de P_H^+ 7,5 à 7,9 par une méthode approximative, donne des résultats très réguliers. Il fournit une toxine qui tue en moyenne en quatre jours à 1/700 de centimètre cube le cobaye de 350 grammes. Nous n'avons pas obtenu mieux en ajustant le P_H^+ à des taux précis.

On obtient des toxines de la même activité et dans les mêmes délais, en plaçant la réaction initiale à un chiffre quelconque entre P_H^+ 6,8 et 7,8 et même au-dessus de 7,8. La dose mortelle reste à peu près la même du septième au onzième jour de la culture. Au delà de 8,6 il ne paraît pas se former de toxine. Au-dessous de 6,8, l'activité de la toxine baisse fortement. Avec un P_H^+ initial de 5,8 à 6,1 on n'arrive à tuer le cobaye en quatre jours qu'avec 1/10 de centimètre cube.

Les réactions nettement acides ou alcalines ont une influence défavorable sur la conservation de la toxine. Mais cette influence n'est pas suffisante pour expliquer que l'on n'obtienne presque pas de toxine quand la réaction initiale est trop acide. Au bout de deux ou trois jours de culture cette réaction est devenue favorable, et cependant la toxine n'apparaît pas. Que s'est-il passé ? Nous instituons de nouvelles expériences pour essayer de répondre à cette question.

La marche de la réaction, sur le milieu Martin, est différente dans les premiers jours de culture selon que le point de départ est au-dessus ou au-dessous de P_H^+ 7,3 à 7,4. Quand le milieu est acide, elle va vers l'alcalinité; quand il est alcalin, elle va vers l'acidité; au bout de quatre jours, un peu plus quand le milieu est très alcalin, les courbes de réaction arrivent presque à se superposer. Nous avons dégagé quelques-uns des facteurs de ces modifications, dont nous reprenons l'étude plus complète.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Roux et Yersin. Ces *Annales*, **2**, p. 629, 1888 et **3**, p. 1889.

[2] Spronck. Ces *Annales*, **9**, p. 758, 1895.

[3] Park et Williams. *Journ. of experimental Medicine*, **1**, p. 1, 1896.

[4] L. Martin. Ces *Annales*, **12**, p. 26, 1898.

[5] Th. Smith. *Transact. Assoc. of Americ. Physic.*, 1896; et *Journ. of experimental Medicine*, **4**, p. 373, 1899.

[6] Th. Madsen. *Zeitschr. f. Hygiene*, **26**. p. 157, 1897 et Kraus et Levaditi. *Handbuch d. Technik u Methodik d. Immunitätsforschung*, **1**, p. 71, 1908.

[7] Mac Conkey. *Jour. of Hygiene*, **12**, p. 507, 1912.

[8] J. W. M. Bunker. *Journ. of Bacteriology*, **4**, p. 379, 1919.

[9] K. G. Dernby et H. Davide. *Journ. of Pathology a. Bacteriology*, **24**, p. 150, 1921.

[10] Otto et Hetsch. *Die staatliche Prüfung der Heilsera*, p. 71. — G. Fischer, Jena, 1921.

[11] K. A. Jacobsen. *Centralblatt f. Bakteriol.*, Orig., **57**, p. 16, 1911.

[12] C. Lubenau. *Archiv f. Hygiene*, **66**, p. 305, 1908.

[13] H. Davide et G. K. Dernby. *C. R. Réunion biolog. de Suède, C. R. Soc. de Biol.*, **85**, p. 1177, 1921.

[14] J. P. Moloney et L. Hanna. *Proceed. Society for experimental Biology and Medicine*, **19**, p. 24, 1921.

DE LA VACCINATION DU COBAYE CONTRE LE SANG CHARBONNEUX

par A. BESREDKA et Y. DE TRÉVISE

Le bacille du charbon est un de ceux que l'on rencontre le plus fréquemment aux grands carrefours de la doctrine de l'immunité.

Qu'il s'agisse de l'immunité naturelle ou acquise, que celle-ci soit active ou passive, on ne manque pas de constater que ce qui est vrai pour la bactéridie souvent ne s'applique pas aux autres virus, et inversement.

Ainsi, lorsqu'en 1880 Pasteur eût découvert le principe d'atténuation pour les bacilles du choléra des poules, celui-ci fut aussitôt étendu au charbon. Or, ce principe, appliqué depuis à d'autres virus connus ou encore inconnus, ne trouva jamais d'expression aussi belle que dans le cas de la bactéridie.

Lorsqu'en 1888, Behring (1) fit la constatation, retentissante à l'époque, que le rat, animal réfractaire au charbon, possède un sérum puissamment destructeur vis-à-vis de la bactéridie, on crut tenir la clef de l'immunité anticharbonneuse et même celle de l'immunité naturelle, en général.

Vint, en 1890, le Mémoire classique de Metchnikoff (2) qui réduisit l'immunité du rat à ses justes proportions, c'est-à-dire à celles d'un fait particulier.

Lorsque, quelques années plus tard, se posa le problème de la sérothérapie anticharbonneuse, on vit de nouveau la bactéridie se singulariser au point de vue de l'immunité passive. On sait que les grands animaux, les chevaux en particulier, se laissent aisément immuniser contre la bactéridie; on arrive à leur faire tolérer, en injections intraveineuses, des litres de virus, tout comme dans le cas de toxine tétanique ou diphté-

(1) *Centralbl. f. klinische Medizin*, 1888, n° 38, p. 681.
(2) Ces *Annales*, 1890, 4, p. 193.

rique. Or le sérum anticharbonneux, obtenu dans ces conditions, protège le cobaye tout au plus contre une dose minima mortelle de virus, encore cette protection est-elle peu sûre.

Et dans un ordre d'idées analogues ne voit-on pas que les animaux de laboratoire, si faciles en général, à vacciner contre divers virus, se prêtent si difficilement à la vaccination, dès qu'il s'agit du virus charbonneux?

Rappelons, enfin, ce trait caractéristique de la bactéridie, qui a été signalé dernièrement par un de nous (1). Ce virus, si meurtrier pour le cobaye, ne s'attaque en réalité qu'à un groupe particulier de cellules, celles de la peau. Cette affinité pour le revêtement cutané du cobaye est strictement spécifique, le virus charbonneux n'ayant aucune prise sur d'autres tissus ou organes.

Tous ces faits montrent combien l'histoire du charbon est pleine d'imprévu et combien l'immunité anticharbonneuse ressemble peu à celle qui régit la plupart des microbes pathogènes.

*
* *

Faudrait-il ajouter aux caractères si particuliers de la bactéridie encore celui de constituer un virus différent, suivant qu'il est cultivé dans les milieux artificiels ou qu'il est contenu dans le sang des animaux morts du charbon?

A la suite de l'expérience faite, en 1882, à l'Ecole vétérinaire de Toulouse, il a été décidé de réserver les deux tiers des animaux vaccinés pour constater, entre autres, « si les animaux vaccinés résisteront aussi bien à l'inoculation du sang charbonneux qu'à l'inoculation du virus très virulent » (2).

Si la Société d'Agriculture de Toulouse, qui a pris l'initiative de cette expérience, jugea opportun de poser cette question, ce ne fut pas par pure curiosité scientifique. C'est que les expériences instituées en différents pays, tant en France qu'à l'étranger, laissèrent planer à cet égard un certain doute. Des moutons vaccinés, puis inoculés avec de la bactéridie provenant des cultures, sortaient toujours victorieux de l'épreuve; mais, dès qu'on soumettait les animaux vaccinés à l'épreuve avec du sang charbonneux, on avait quelquefois des mécomptes.

(1) Ces *Annales*, **35**, p. 421.
(2) Chamberland. *Charbon et vaccination charbonneuse*, 1883.

Dans bien des cas la cause d'insuccès résidait, comme l'a montré Pasteur, dans la présence, dans le sang inoculé, des vibrions septiques; mais, il y eut aussi des cas défavorables avec du sang non contaminé. Rappelons l'expérience de l'Ecole vétérinaire de Turin. Elle porta sur vingt bêtes vaccinées. L'épreuve fut faite avec du sang fraîchement récolté, ne renfermant que des bactéridies. Or, sur les 20 bêtes ainsi éprouvées, 9 succombèrent au charbon.

Cette expérience de Turin, bien que réalisée dans des conditions qui lui enlèvent son caractère rigoureux, est loin de la célèbre démonstration de Pouilly-le-Fort, la première en date, exécutée par Pasteur, Roux et Chamberland, où sur 25 moutons vaccinés, il n'y eut qu'une seule mort, celle d'une brebis pleine; et où, sur 24 moutons et une chèvre, témoins non vaccinés, il n'y eut pas une seule survie (1).

Certes, aucune des nombreuses expériences faites depuis, dans les divers points du globe, n'a été aussi peu heureuse que celle d'Italie.

Comment expliquer que l'immunité des animaux vaccinés fléchit quelquefois devant l'inoculation du sang charbonneux?

Est-ce une question d'ordre quantitatif ou qualitatif? En d'autres termes, l'inoculation du sang charbonneux est-elle sévère parce que massive ou parce que le virus du sang est de nature différente du virus contenu dans les cultures?

Ne serait-ce pas la capsule dont s'auréole la bactéridie dans le sang, qui, en paralysant les phagocytes, empêcherait l'animal de lutter contre l'infection? Notons que cette hypothèse relative au rôle de la capsule, s'appuyant sur des analogies empruntées à l'histoire d'autres microbes, est celle qui a le plus de crédit aujourd'hui dans les milieux bactériologiques.

*
* *

Dans une étude publiée récemment par l'un de nous, il a été montré que le cobaye, animal réceptif vis-à-vis du charbon, ne l'est en réalité qu'en raison de la réceptivité de sa peau : l'infection expérimentale du cobaye débute toujours par une cuti-

(1) *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 13 juin 1881.

infection. En partant de ce fait, expérimentalement établi, il a été démontré qu'en procédant à la cuti-vaccination, on arrive à conférer à la peau une immunité extrêmement solide : on réalise ce que nous appelons une cuti-immunité.

La réceptivité de la peau étant levée, le cobaye tout entier devient vacciné contre le charbon.

L'extrême facilité avec laquelle, grâce à la cuti-vaccination, on peut aujourd'hui immuniser le cobaye contre le charbon, nous permet de répondre à la question qui préoccupa, en 1882, la Société d'Agriculture de Toulouse. Nous sommes à même de nous rendre compte si un animal vacciné contre la bactéridie virulente de culture l'est également contre la bactéridie contenue dans le sang.

Ayant à inoculer, dans nos expériences sur les cobayes, du sang charbonneux, nous avons décidé d'opérer exactement comme si nous avions à inoculer des bactéridies provenant d'une culture : nous procédâmes à un dosage aussi précis que possible de la virulence du produit à inoculer, c'est-à-dire du sang. Pour avoir toujours du sang de virulence sensiblement égale, nous en prélevions dans le cœur des cobayes inoculés dans des conditions identiques (avec 1/10-1/100 de culture âgée de 24 heures en bouillon, en injection sous-cutanée).

Le sang ainsi récolté tuait le cobaye neuf, sous la peau, à la dose de 1/50 à 1/100 de goutte.

Nos cobayes vaccinés avaient été tous préparés en même temps dans des conditions identiques :

29 novembre. .	1/10	c.c.	de 1er vaccin	dans la	peau.
7 décembre . .	1/10	c.c.	de 2e —	—	—
17 décembre . .	1/2	c.c.	de 2e —	—	—
29 décembre . .	1/10	c.c.	de virus	dans la	peau.
11 janvier . . .	1/3	c.c.	—	—	—
18 janvier . . .	1	c.c.	—	—	—
1er février. . .	1	c.c.	—	sous	—
8 mars	1	c.c.	—	—	—
25 avril.	1	c.c.	—	—	—

Nous avons fait trois séries d'expériences comprenant chacune des cobayes vaccinés et non vaccinés. Ces expériences variaient entre elles seulement par la dose de sang inoculé.

En raison de l'uniformité des résultats obtenus, nous estimons sans intérêt d'en rapporter les détails.

Sans chercher à atteindre la limite de tolérance de nos cobayes vaccinés, nous avons constaté qu'ils supportaient sans le moindre trouble l'inoculation sous la peau de quatre gouttes de sang virulent, c'est-à-dire une quantité de virus qui représentait, au moins, deux cents doses mortelles pour un cobaye non vacciné.

De l'ensemble de nos expériences, il se dégage donc la conclusion que : *la cuti-vaccination pratiquée au moyen des bactéridies provenant de cultures crée une immunité solide vis-à-vis du virus contenu dans le sang d'animal mort de charbon.*

INOCULATION DU CHARBON
PAR LA MUQUEUSE CONJONCTIVALE

par Marguerite AÏTOFF (Pétrograd).

La question de l'inoculation des maladies microbiennes par la muqueuse conjonctivale mérite d'arrêter notre attention, surtout lorsqu'il s'agit d'une maladie très pathogène pour une espèce animale.

Ainsi la tuberculose (Calmette, Guérin, Grysez) inoculée dans les yeux du cobaye lui donne la maladie d'abord ganglionnaire, puis généralisée, sans provoquer de lésions locales. Les bacilles pesteux et morveux pénètrent aussi fort aisément par cette voie. Le virus rabique instillé dans l'œil communique la maladie. Il en est de même pour la vaccine qui donne des pustules sur la cornée, sans qu'il y ait eu la moindre lésion conjonctivale préalable (expériences en cours).

Il n'en est pas de même pour le charbon qui, bien qu'ayant été étudié à ce point de vue par plusieurs auteurs, a donné des résultats discordants. Tandis que Braunschweig (1) n'arrive pas à donner le charbon en l'inoculant dans le sac conjonctival de l'œil, Rœmer (2) et Mayer (3) ont pu, semble-t-il, le donner, en inoculant non pas la culture, sur gélose ou en bouillon, mais une suspension de spores charbonneuses dans l'eau. Ces deux auteurs affirment, de plus, que l'infection par l'œil se fait d'une manière plus rapide que par la voie sous-cutanée, la mort survenant après 20-24 heures.

Cependant, en étudiant avec attention le travail de Rœmer, on constate que ses expériences ne sont nullement concluantes. Le charbon inoculé, soit en culture en bouillon ou sur gélose, soit avec du sang d'un animal charbonneux, ne donne au

(1) Braunschweig. *Fortschritte der Medizin*, 1889, n° 24, p. 921.
(2) Roemer. *Zeitschr. f. Hygiene*, **32**, 1899, p. 295.
(3) Mayer. *Münch. med. Wochenschr.*, 1900, n° 34, p. 1169.

cobaye qu'une seule fois le charbon mortel en trois jours ; dans tous les autres cas, les cobayes survivent.

Dans une autre série d'expériences, en inoculant les spores charbonneuses mélangées à de la poussière, et en frottant ce mélange sur la conjonctive, ce qui suppose la formation de petites lésions de la conjonctive, Roemer n'a obtenu que deux fois l'infection, une fois chez un cobaye et une fois chez un lapin (après 2-4 jours). Les seuls cas probants d'infection se sont produits par inoculation de la spore charbonneuse en suspension dans l'eau chez trois souris grises chez lesquelles la maladie évolua très rapidement vers la mort.

Hirota (1), en répétant les expériences précédentes, constata que sur 36 animaux inoculés dans les yeux avec du charbon, la mort survint dans 2 cas, chez une souris blanche et chez un rat, trois et cinq jours après l'inoculation.

Nos expériences ont porté sur des souris blanches, des rats, des cobayes et des lapins. Nous nous sommes servi de cultures de vingt-quatre heures sur gélose, très abondantes, que nous délayions avec quelques gouttes de sérum physiologique de manière à obtenir une émulsion très épaisse. C'est cette dernière que nous faisions pénétrer au moyen d'une pipette sur la muqueuse conjonctivale, sans la toucher, en écartant les paupières. Nous refermions ensuite les paupières et nous les maintenions rapprochées pendant quelques instants, pour empêcher le liquide de s'écouler au dehors par suite d'un clignement des paupières. Le surplus du liquide qui suintait à travers les paupières était absorbé avec du papier à filtre stérile.

Ces expériences ont porté sur 4 souris blanches, 4 rats, 8 cobayes et 2 lapins, inoculés chacun dans les deux yeux. Aucun de ces 18 animaux n'est mort et aucun n'a présenté de trouble appréciable. Le contenu du sac conjonctival a été examiné tous les jours, au moyen de frottis et d'ensemencements sur tubes de gélose.

Aucun des animaux examinés ne se montra indemne de bactéridies, dès le lendemain : un des deux yeux, au moins, contenait des microbes pendant plus de vingt-quatre heures.

La présence de la bactéridie dans les sacs conjonctivaux a

(1) Hirota. *Centralbl. f. Bakter*, **31**, 1902, p. 225.

pu être constatée pendant une période variant entre vingt-quatre heures et sept jours, temps limite de conservation des bactéridies dans les yeux. Dans la majorité des cas, les bactéridies disparaissaient au deuxième ou troisième jour (dix-huit fois) [voir tableau].

Pour nous rendre compte si les phagocytes interviennent dans la disparition des microbes, nous avons essayé d'agir sur les leucocytes, en inoculant dans le sac conjonctival une solution de 1 p. 100 d'éthocaïne, une demi-heure avant d'y introduire l'émulsion de microbes. L'infection n'eut néanmoins pas lieu; la disparition des microbes dans un des deux yeux ne survint qu'au bout de six jours. Chez un autre cobaye, nous modifiâmes l'expérience : après avoir injecté une solution d'éthocaïne dans les deux yeux, nous avons cautérisé, dix minutes après, la muqueuse avec le bout d'une pipette porté au rouge ; une demi-heure après, nous inoculâmes dans les yeux notre émulsion épaisse de bactéridies. De petites phlyctènes apparurent sur les conjonctives ; l'animal resta néanmoins bien portant et les bactéridies disparurent au bout de vingt-quatre heures d'un œil, au bout de 3 jours de l'autre.

Enfin, chez un cobaye présentant une lésion accidentelle de l'œil, une taie avec une conjonctive fortement œdématiée et une ulcération de la cornée, nous avons inoculé des bactéridies dans les deux yeux. Tandis que dans l'œil sain nous retrouvions les bactéridies jusqu'au sixième jour, l'œil malade présentait une culture presque pure de staphylocoques, où dès le lendemain il nous fut impossible de retrouver une seule bactéridie.

En nous basant sur le fait que le sang charbonneux est encore plus virulent que les cultures sur gélose ou sur bouillon et que les bactéridies dans le sang sont entourées d'une capsule les rendant plus résistantes à la phagocytose, nous avons instillé dans les yeux de souris blanches et de cobayes (animaux les plus sensibles au charbon) du sang prélevé dans le cœur d'un cobaye mort de charbon et très riche en bactéridies. Des 6 souris inoculées avec du sang charbonneux dans les deux yeux, aucune n'a présenté le moindre trouble local, ni général.

Des 8 cobayes inoculés avec du sang charbonneux, 2 ont succombé, l'un au troisième jour et l'autre au cinquième jour

Inoculation de culture de bactéridies charbonneuses dans le sac conjonctival.

Nos	OEIL	MATÉRIEL INOCULÉ	COMBIEN DE JOURS on retrouve des bactéridies	RÉSULTATS
		Souris blanches.		
1	dr. g.	Emulsion de culture sur gélose.	2 jours. 3 —	Bien portante.
2	dr. g.	—	3 — 2 —	—
3	dr. g	—	2 —	—
4	dr. g.	—	4 — 3 —	—
		Rats blancs.		
1	dr. g.	—	1 — 2 —	Bien portant.
2	dr. g	—	. . . . . . 2 —	—
3	dr. g.	—	3 — 3 —	—
4	dr. g.	—	2 — 4 —	—
		Lapins.		
1	dr. g.	—	7 — 3 —	Bien portant.
2	dr g.	—	2 — 2 —	—

Souris blanches.

Nos	MATÉRIEL INOCULÉ		RÉSULTATS	
5	Sang charbonneux dans les deux yeux.		Bien portante.	La bactéridie ne se retrouve pas au delà de 24 heures dans le sac conjonctival.
6	—	—	—	
7	—	—	—	
8	—	—	—	
9	—	—	—	
10	—	—	—	

Cobayes.

Nos	OEIL	MATÉRIEL INOCULÉ	RÉACTION LOCALE	COMBIEN DE JOURS on retrouve des bactéridies	RÉSULTATS
1	dr. g.	Emulsion de culture sur gélose.	Aucune.	3 jours. 2 —	Bien portant.
2	g.	—	—	2 jours.	Id.
3	g.	—	—	1 jour.	Id.
4	g.	—	—	1 jour.	Id.
5	dr. g.	Emulsion de culture très épaisse, formant magma.	—	4 jours. 6 —	Id.
6	dr. g.	—	Conjonctivite membraneuse Aucune.	Staphylocoques. 5 jours.	Id.
7	dr. g.	1 0/0 éthocaïne, 20 minutes après, émulsion de bactéridies.	Aucune. Taie, conjonctivite, œdème.	6 jours. Staphylocoques.	Id.
8	dr. g.	1 0/0 éthocaïne, 10′ apr. brûlure; 10′ apr. émulsion de bactér.	Phlyctènes, petits ulcères Id.	Staphylocoques. 3 jours.	Id.
9	dr. g.	1 goutte de sang charbonneux.	—	. . . . .	† 3 j. après. Fem. pleine. Charbon généralisé.
10	dr. g,	—	—	. . . . . . 1 jour.	Bien portant.
11	dr. g.	—	—	1 jour.	Id.
12	dr. g.	—	—	. . . . .	Id.
13	dr.	—	—	1 jour.	Id.
14	dr. g.	—	—	. . . . . . 1 jour.	Id.
15	dr.	—	—	1 jour.	Bien portante, pleine.
16	dr. g.	—	—	. . . . .	† 5 j. après. Charb. gén. Fem. pleine.

avec une infection généralisée. Il s'agissait dans les deux cas de femelles pleines.

Des 6 autres cobayes, une encore était une femelle pleine; elle resta indemne, peut-être du fait d'avoir été inoculée dans un seul œil ou bien de s'être trouvée dans un état de grossesse peu avancée. Les 5 autres mâles ont été inoculés avec du sang charbonneux : 4 dans les deux yeux et 1 dans un seul œil. Tous restèrent indemnes. Les bactéridies ont été retrouvées chez eux dans le contenu du sac conjonctival pendant un temps ne dépassant pas vingt-quatre heures.

*
* *

Nous pouvons conclure de nos expériences que la muqueuse conjonctivale offre une barrière infranchissable non seulement pour les bactéridies provenant de cultures sur gélose ou en bouillon, mais aussi pour celles considérées comme beaucoup plus virulentes, parce que entourées de capsule, provenant du sang d'animaux morts du charbon.

Comme seule exception à cette règle, nous pouvons citer les femelles pleines; leur résistance à l'inoculation de sang charbonneux sur la muqueuse conjonctivale semble diminuée.

La cautérisation artificielle de la muqueuse, ainsi que les ulcérations accidentelles de cette muqueuse, loin d'activer l'infection, provoquent, au contraire, la disparition rapide de la bactéridie à la faveur de l'apparition de microbes banaux, tels que les staphylocoques.

L'instillation d'éthocaïne dans l'œil, quoique provoquant un ralentissement de la phagocytose, n'est pas suivie de pénétration des bactéridies dans le système lymphatique ou sanguin. (La solution d'éthocaïne n'est pas toxique pour les bactéridies : celles-ci se développent sur gélose imprégnée de cette substance.)

Le mécanisme de la non-infection du charbon par la muqueuse conjonctivale peut tenir, en partie, aux conditions purement mécaniques, l'œil se débarrassant des particules étrangères par le liquide lacrymal et le clignement des paupières, et surtout, à des phénomènes d'ordre chimique, qui tout

en conservant la bactéridie intacte et virulente jusque pendant sept jours dans le sac conjonctival, ne lui permettent pas de pénétrer dans l'organisme : nous assistons à un phénomène d'immunité naturelle locale dont le mécanisme intime reste à déterminer.

(Laboratoire du professeur Besredka.)

SUR UN NOUVEAU GENRE DE *METCHNIKOVELLIDÆ*

par V. A. DOGIEL,

Professeur de Zoologie à l'Université de Pétrograd.

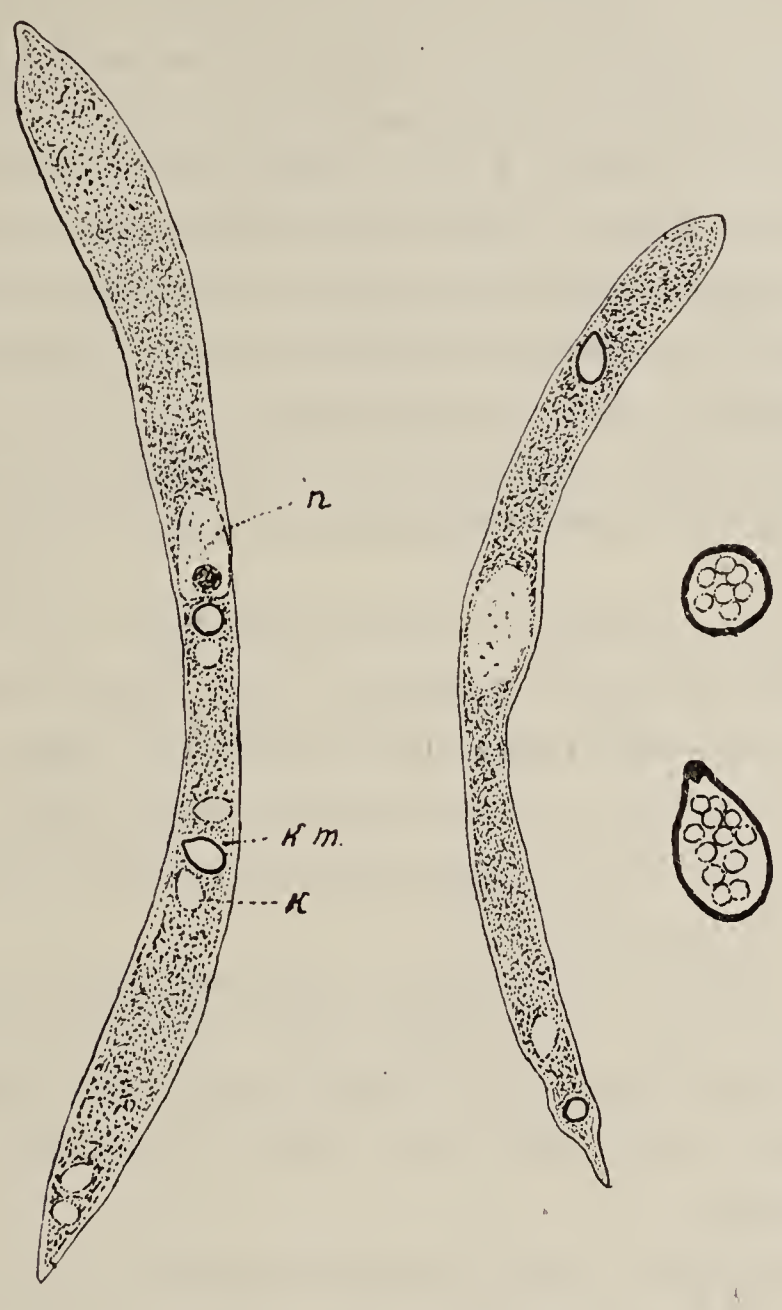
En 1919, Caullery et Mesnil (1) ont publié leur mémoire sur les curieux parasites des Grégarines, qu'ils réunissent sous le nom de *Metchnikovellidæ*, groupe de Protistes inférieurs dont les affinités systématiques restent encore douteuses. Le mémoire cité représente le résultat d'observations de plusieurs années (vingt et un ans), faites sur un grand nombre de grégarines habitant dans le tube digestif de diverses Annélides Polychètes. En comparant les descriptions de formes diverses de *Metchnikovellidæ*, données par Caullery et Mesnil, avec mes propres observations faites il y a quelques années à la station biologique de Mourman (golfe de Kola), je vois que j'ai eu affaire à une forme nouvelle de ces parasites. D'après les caractères de ses kystes, cette forme doit former un genre nouveau de *Metchnikovellidæ*.

La forme décrite ici vit en parasite dans l'endoplasme d'une espèce de *Selenidium* qui se trouve attachée à la paroi de l'intestin de *Travisia forbesi*. Cet Annélide existe en grande quantité dans la vase de la côte, découvrant à marée basse, tout près du bâtiment de la station biologique de Mourman.

Le stade observé du parasite était celui de kystes. C'est juste le stade qui a servi (et avec raison) à Caullery et Mesnil pour grouper les différentes espèces de *Metchnikovellidæ* en trois genres. Les kystes de l'espèce mourmanienne ont la forme d'un œuf quelque peu allongé à son bout étroit, ou plutôt d'une petite bouteille. Une extrémité de la bouteille étant arrondie, l'autre s'effile en un court col. Le kyste possède une paroi épaisse à double contour et présente à son bout étroit un petit épaississement-bouchon, observé déjà par les auteurs français chez d'autres *Metchnikovellidæ*. La même ressem-

(1) Ces *Annales*, t. **33**, p. 209.

blance se montre dans le mode d'action sur le kyste des matières colorantes, qui ne pénètrent dans le kyste qu'avec une grande difficulté. C'est à cause de cela que les kystes présentent souvent des plis irréguliers. Chaque kyste contient de 8 à 12 petits corpuscules arrondis (spores); le dernier nombre caractérise



Caulleryetta mesnili dans un *Selenidium*, grégarine de l'intestin de l'annélide *Travisia forbesi*.
n, noyau; *k. m.*, kystes mûrs; *k*, kystes à parois minces.

évidemment des kystes parfaitement mûrs. A l'état vivant, on peut distinguer deux sortes de kystes: les uns parfaitement mûrs ont, comme je l'ai dit, des parois épaisses et des spores bien visibles. Les autres sont au contraire plus transparents, à parois minces et à contours qui ne sont pas bien définis; leur contenu n'est pas bien différencié en spores. Le corps de la grégarine-hôte est tellement étroit que les kystes sont rangés

en une seule file ; ils sont disposés, sans ordre apparent, dans la partie prénucléaire ainsi que dans la partie post-nucléaire de l'hôte.

La description donnée ne laisse aucun doute que nous avons devant nous un représentant de la famille des *Metchnikovellidæ*. Mais tandis que tous les *Metchnikovellidæ* décrits jusque-là ont des kystes dont les deux pôles sont semblables, chacun avec un épaississement, le parasite du *Selenidium* de la *Travisia* a un kyste hétéropolaire, à bouts différents, avec un seul bouchon. Cela donne à penser que la sortie des spores se fait ici par un bout du kyste seulement (celui du bouchon). Ce caractère bien constant me permet de créer pour la forme de Mourman un genre nouveau que je propose de nommer *Caulleryetta mesnili* en l'honneur des deux auteurs qui les premiers ont attiré l'attention des protistologistes sur ce groupe de parasites unicellulaires.

Les grégarines infectées contenaient de 5 à 10 *Caulleryetta* et paraissaient être bien portantes, car elles présentaient les mouvements caractéristiques des *Selenidium*. Chez l'une d'elles, le noyau n'avait pas de caryosome, mais cette particularité peut être constatée chez des grégarines normales aussi bien que chez les individus parasités.

En ce qui concerne la position systématique des *Metchnikovellidæ*, la question reste, à mon avis, encore non élucidée, à cause de la connaissance imparfaite que nous avons non seulement des stades végétatifs, mais aussi de tout le cycle évolutif de ces organismes.

Il me reste encore à dire quelques mots en défense de mes observations, faites sur *Schizocystis sipunculi*. En faisant l'analyse de mon travail, Caullery et Mesnil partagent l'opinion de Brasil et Fantham, que les états de schizogonie observés par moi chez *Schizocystis sipunculi* « paraissent bien plutôt représenter un parasite de l'endoplasme de la grégarine ». Contre cette supposition, je peux avancer les arguments suivants : 1° la schizogonie étant indubitablement observée par Léger et d'autres chez des grégarines variées, et présentant des aspects bien divers, mes données n'ont *a priori* rien d'invraisemblable ; 2° les corpuscules vus par moi à l'intérieur de *Schizocystis* à l'état de propagation sont clairement grégariniformes, et ils

ont de plus l'aspect des grégarines monocystidées (comme la cellule-mère); 3° les *Schizocystis sipunculi*, ressemblant bien au genre *Selenidium*, se distinguent des autres grégarines de l'intestin des Polychètes par leur répartition dans le tube digestif. Tandis que les *Selenidium* se rencontrent isolément, les *Schizocystis* se trouvent toujours par centaines, groupées en masses épaisses, contenues dans de petits diverticules de l'intestin produits par les parasites. La présence même de tels amas fait penser aux affinités des *Schizocystis* et des Schizogrégarines; d'autre part ces groupements sont expliqués précisément par la reproduction asexuelle répétée du parasite dans le tube digestif de l'hôte, que j'ai observée. On peut contester l'attribution de la forme décrite au genre *Schizocystis*, mais la présence d'une schizogonie endogène chez la forme en question est incontestable.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

36e ANNÉE AOUT 1922 N° 8

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

VACCINATIONS PRÉVENTIVES PAR VOIE DIGESTIVE CHEZ L'HOMME DANS LA DYSENTERIE BACILLAIRE ET LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE

par Charles NICOLLE et E. CONSEIL.

Quelques savants ont montré que la voie digestive pouvait être utilisée pour l'immunisation active des animaux de laboratoire. Par contre, aucune preuve expérimentale décisive n'avait été apportée de l'efficacité de la méthode chez l'homme avant la note préliminaire que nous avons présentée à l'Académie des Sciences sur le sujet (1) et dont ce mémoire est le développement.

L'emploi de la voie digestive pour l'introduction des vaccins est tentant. Son efficacité prouvée, il n'est pas sans doute de méthode plus assurée de la faveur du public, toujours impressionnable et demeuré plus ou moins réfractaire à la pratique des inoculations. Cet avantage, appréciable pour tous les vaccins, devient plus précieux lorsqu'il s'agit de microbes toxiques, dont l'inoculation sous-cutanée détermine une réaction locale. Les vaccins antityphoïdiques sont trop souvent

(1) Ch. Nicolle et E. Conseil, Vaccination préventive par voie digestive chez l'homme. *C. R. Acad. des Sciences*, **174**, p. 724, séance du 13 mars 1922.

dans ce cas ; nous verrons que le vaccin antidysentérique ne peut être introduit sous la peau sans qu'une très forte réaction consécutive s'ensuive.

La voie digestive semble, d'autre part, la plus naturelle, lorsque l'agent infectieux, vis-à-vis duquel on cherche à immuniser l'organisme, a pour porte d'entrée ordinaire le tube gastro-intestinal. La muqueuse digestive et ses dépendances offrent dans ce cas une sensibilité particulière au microbe qui s'y localise de préférence et Besredka pense qu'elles jouent de même un rôle primordial dans l'élaboration des anticorps secondaires à l'ingestion du vaccin.

A côté de ces avantages incontestables, l'emploi de la méthode digestive présenterait dans son application quelques inconvénients. D'un emploi infiniment simple, qui la met à la portée du public lui-même, elle semble destinée en se vulgarisant à échapper au contrôle de l'hygiéniste et du médecin. D'autre part, l'absorption des substances vaccinantes est liée à des conditions obscures et sans doute très variables ; les méthodes sous-cutanées ou intraveineuses apparaissent comme plus rigoureuses, plus comparables d'un sujet à l'autre et permettent mieux le dosage. Quoi qu'il en soit, les avantages de la voie gastro-intestinale sont sensibles. Nous avons cherché par des expériences indiscutables à nous rendre compte de sa valeur.

DIFFICULTÉS QUE PRÉSENTE LE CONTROLE DE LA MÉTHODE DES VACCINATIONS PRÉVENTIVES PAR VOIE DIGESTIVE

Le contrôle de l'efficacité des vaccins digestifs rencontre deux ordres de difficultés, suivant qu'on cherche à juger la méthode par des essais sur l'homme ou par l'expérimentation sur les animaux.

Il est certain que rien ne vaut, pour la démonstration de l'efficacité d'une méthode d'immunisation, le contrôle expérimental pratiqué sur l'espèce même qu'il s'agit de protéger, surtout lorsqu'on étudie un mode d'absorption du vaccin aussi complexe que son introduction par voie digestive.

Or, si l'essai des vaccins eux-mêmes, à condition qu'ils soient

constitués par des microbes morts et suffisamment dosés, n'offre guère d'inconvénients par cette voie dans notre espèce, il en va tout autrement de la pratique même du contrôle, lequel nécessite l'inoculation de microbes pathogènes vivants aux personnes supposées vaccinées et à un sujet neuf. Le contrôle ne saurait être en effet valable que si cet individu témoin contracte la maladie et témoigne par le contraste de son infection avec la résistance des vaccinés de l'efficacité de la méthode qui a protégé ceux-ci. Est-il utile d'ajouter le risque que courent les premiers dans l'incertitude, où les met une méthode à l'étude, de subir eux aussi le sort du témoin ?

L'essai sur l'homme ne saurait donc être admis dans les cas où la maladie, dont on étudie la vaccination, risque de mettre en danger la santé de celui sur lequel on expérimente. Tel est le cas de la fièvre typhoïde, des fièvres paratyphoïdes, du choléra.

Ajoutons que l'infirmité de nos moyens est telle que nous ne saurions à coup sûr déterminer dans bien des cas l'infection du sujet (telles sont précisément les maladies que nous venons de citer) et que de semblables expériences risqueraient de partager le savant, qui les tenterait, entre la crainte de nuire au témoin et l'incertitude de le contaminer.

Force a donc été jusqu'à présent, faute de trouver un moyen qui tourne la difficulté et qui est, nous le verrons, l'expérimentation avec des microbes peu dangereux, de se contenter dans notre espèce de méthodes non éprouvées expérimentalement et de demander la clef du contrôle de l'immunisation soit à la recherche chez les vaccinés des substances dont l'apparition est regardée comme un signe d'immunité, soit aux statistiques.

Ces statistiques montreront en cas d'épidémies ou en milieu endémique la proportion relative des malades chez les sujets préalablement vaccinés et chez les individus neufs. C'est là une méthode souvent défectueuse, toujours longue. Elle a pourtant permis de démontrer l'efficacité des méthodes de vaccination préventive par voie sous-cutanée contre le choléra, la peste, les fièvres typhoïde et paratyphoïdes. Elle exige, pour imposer ses résultats, des milliers de sujets. Il serait osé d'en

distraire un tel nombre à des méthodes reconnues favorables pour juger un procédé dont l'efficacité est à démontrer.

Reste la recherche des anticorps sur les vaccinés. Cette recherche donnerait des indications précieuses si l'absence ou la présence, même le taux de ces anticorps comportait vraiment une signification. On l'a cru longtemps et, dans cette période, étudiant la méthode digestive comme les autres, on s'est efforcé de déceler, de doser même les anticorps chez les vaccinés : pouvoir agglutinant, pouvoirs bactéricide et bactériolytique, réaction de fixation. Or, il est évident aujourd'hui que ces propriétés sont de simples indicateurs de l'état de maladie, tout au plus des témoins de la résistance Est-il utile de rappeler la présence de ces diverses propriétés chez les malades atteints de fièvre typhoïde au cours de leur infection et leur disparition rapide dans la convalescence, alors que l'immunité dure toute la vie ; et la réaction de Bordet-Wassermann, la plus employée des réactions de fixation, n'offre-t-elle pas cette double signification de prouver successivement chez un même individu par sa présence qu'il est atteint de syphilis et par sa disparition qu'il en est guéri, du moins en apparence ?

La recherche des anticorps sur les sujets soumis aux vaccins ne saurait donc fournir de preuves valables de l'immunité. Si l'on ne peut expérimenter chez l'homme et recourir au contrôle seul rigoureux de l'épreuve infectante, il est donc nécessaire de chercher à trancher le problème par l'expérimentation sur les animaux.

Or, cette expérimentation, pour être valable, suppose que l'animal est sensible au microbe pathogène, plus exactement que ce microbe détermine chez lui une maladie du même type que chez l'homme.

Encore faut-il bien savoir que la façon de réagir ne saurait être qu'exceptionnellement identique dans deux espèces animales souvent extrêmement éloignées l'une de l'autre et qu'on risquerait à conclure du cobaye, du lapin ou de la souris à l'homme. La vaccination antipesteuse a été longtemps délaissée, parce qu'étudiée chez les petits animaux elle se montrait dangereuse pour eux et paraissait peu favorable, alors que son application à notre espèce a prouvé une innocuité et une efficacité remarquables.

Le problème est autrement difficile et les conditions plus scabreuses, lorsqu'il s'agit de microbes incapables de reproduire chez l'animal la même infection que chez l'homme. C'est dans de telles expériences qu'il importe de ne pas confondre, ainsi qu'on a eu tendance à le faire trop souvent, le pouvoir toxique d'un microbe avec son pouvoir pathogène. Aucun rapport ne saurait être établi entre la péritonite à bacille typhique du cobaye ou de la souris, création du laboratoire, intoxication massive bien plus qu'infection et la fièvre typhoïde de l'homme, maladie insidieuse à début et localisations digestives.

Toxique pour le lapin comme pour l'homme, le bacille dysentérique n'est virulent que dans notre espèce et cette virulence même y subit des variations sensibles.

Si l'on veut pouvoir conclure de l'animal à l'homme, il faut s'efforcer d'obtenir chez l'animal la reproduction de la maladie naturelle humaine avec une ressemblance aussi approchée que possible.

C'est à cette tâche que s'est consacré Besredka et c'est aussi la raison pour laquelle les travaux de cet auteur montrent une supériorité éclatante sur les autres recherches parallèles, dénuées d'un tel esprit critique.

EXPOSÉ DES TRAVAUX DE BESREDKA SUR LES VACCINATIONS PAR VOIE DIGESTIVE

Le premier objet, que s'est proposé Besredka, a donc été de reproduire la maladie humaine sur l'animal. Il a utilisé surtout le lapin, parfois la souris et il a borné son étude à deux infections, toutes les deux d'origine digestive, la dysenterie bacillaire et l'infection paratyphoïde à bacille B. Ce microbe a été choisi comme le plus voisin du bacille typhique ; il a sur lui l'avantage d'un pouvoir pathogène manifeste vis-à-vis des animaux, tandis que l'agent de la fièvre typhoïde ne témoigne que d'une virulence douteuse en dehors de notre espèce. Dans l'esprit de l'auteur, les résultats obtenus avec le bacille paratyphique seront valables pour le typhique même.

Avec le bacille dysentérique et le lapin, Besredka est arrivé

aisément au résultat qu'il se proposait. Si l'ingestion de cultures du bacille de Shiga se montre incapable de produire la dysenterie chez l'animal, même de l'infecter, l'inoculation sous-cutanée ou mieux l'inoculation intraveineuse permet d'obtenir, sinon une dysenterie typique et constante, du moins, avec des échantillons suffisamment virulents ou toxiques, des lésions de l'intestin et une localisation digestive du microbe inoculé. Cette localisation est celle que présente le bacille de Shiga dans la dysenterie humaine : muqueuse de l'intestin et de la vésicule biliaire, avec présence du microbe dans le contenu intestinal et dans la bile.

Bien que la voie d'introduction du microbe soit anormale et que l'évolution de l'infection, rapidement curable ou rapidement mortelle, ne montre pas une identité parfaite avec la maladie de l'homme, Besredka juge la ressemblance suffisante et il conclut à l'action du vaccin, si celui-ci met à l'abri de l'épreuve virulente les lapins qui l'ont reçu, tandis que les témoins y succombent.

Pour le bacille paratyphique, notre collègue rejette l'inoculation péritonéale ; il n'admet pas qu'elle réalise une infection comparable à la maladie naturelle de l'homme. L'ingestion de cultures n'infecte pas le lapin ; l'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse donne des résultats inconstants, en tout cas la localisation intestinale manque. Pour obtenir un résultat plus net, Besredka a recouru à un subterfuge ; il crée préalablement une lésion de la muqueuse digestive. Cette lésion s'obtient facilement par l'ingestion de bile de bœuf. Chez les lapins traités par ce procédé, l'inoculation sous-cutanée ultérieure ou bien l'ingestion de cultures de bacille paratyphique détermine une infection, sinon du type humain, du moins qui s'en rapproche par les localisations du microbe introduit. Ces localisations sont celles du bacille dysentérique dans l'infection expérimentale obtenue chez le lapin par voie veineuse.

Ayant en sa possession des procédés, qui lui permettaient d'obtenir chez le lapin la reproduction approchée de la maladie humaine, c'est-à-dire des témoins valables. Besredka a pu chercher l'action préventive des vaccins digestifs contre la dysenterie et l'infection paratyphoïdique expérimentales du lapin.

Il lui a suffi pour la dysenterie de se servir de cultures tuées. L'ingestion préalable de celles-ci protège l'animal contre l'inoculation intraveineuse d'un bacille dysentérique, qui détermine la maladie intestinale typique et mortelle chez les témoins.

Dans le cas du bacille paratyphique, la même méthode échoue. Il n'est pas plus possible de créer l'immunité par voie digestive avec des cultures mortes que de déterminer par la même voie l'infection avec des cultures vivantes. Ingérées, celles-ci ne créent aucune immunité. C'est que le bacille paratyphique, au contraire du bacille de Shiga, ne lèse pas la muqueuse digestive et qu'il faut, chez le lapin, l'existence de telles lésions, pour que l'absorption du vaccin, aussi bien que l'infection, se produisent. Besredka obtient la première par le même procédé qui lui avait permis d'obtenir la seconde, c'est-à-dire en préparant l'intestin au moyen d'une ingestion préalable de bile de bœuf.

Poussant plus loin ses recherches, l'auteur a cherché à se rendre compte du mécanisme même de l'immunité chez ses animaux d'expériences. Une première ingestion de vaccin est suivie de la production d'anticorps peu actifs, mais dont on peut reconnaître l'existence dans le sang des lapins; une seconde ingestion, une troisième n'en sont plus suivies ; ce qui prouve à Besredka que la défense contre les microbes introduits est fonction de la muqueuse de l'intestin et non des cellules du sang ou d'organes internes. Ce rôle primordial ou unique de la muqueuse digestive dans la lutte contre les infections, dont la porte d'entrée est le tube gastro-intestinal, ne démontre pas seulement, dans l'esprit de l'auteur, que les vaccins digestifs sont actifs, il prouve aussi que la voie digestive est pour l'immunisation la meilleure. A quoi bon, en effet, obliger les microbes, en les inoculant par voie sous-cutanée ou même intraveineuse, à un voyage dans l'organisme, qui, finalement en conduit une partie au contact du tissu où se fait l'élaboration des substances protectrices, lorsqu'il est si facile de déposer ces microbes au contact même de ce tissu par voie digestive?

Ces résultats consignés, il était naturel que l'auteur tentât l'application de sa méthode chez l'homme. Convaincu du peu

de signification de la présence des anticorps, il lui a paru inutile de les rechercher. Besredka s'est borné à préconiser l'emploi des vaccins digestifs, qu'il prépare biliés afin de favoriser leur absorption et il demande, actuellement, aux statistiques de lui apporter la preuve de leur efficacité. Les statistiques commencent à la lui apporter (1).

Nous avons cité avec détail les recherches de Besredka. Nous n'avons pas mentionné celles des autres auteurs, car nul, sauf lui, ne s'est attaché à reproduire sur les animaux d'expérience la maladie étudiée avec son type humain. Les travaux de Jules Courmont et Rochaix, ceux d'Auguste Lumière et J. Chevrottier ont certainement contribué à intéresser les savants et les médecins à la question des vaccins digestifs ; ils n'ont pas apporté la démonstration expérimentale de leur efficacité.

ORIENTATION DE NOS RECHERCHES

L'hommage légitime, que nous avons rendu aux travaux de Besredka, ne met pas pour nous ceux-ci à l'abri de toute critique. Sans doute, il est intéressant de vacciner par voie digestive des lapins contre la dysenterie obtenue par inoculation intraveineuse du bacille de Shiga ou contre une infection due au bacille paratyphique et que facilite une lésion préalable de l'intestin par la bile de bœuf. Mais, si ces infections expérimentales montrent bien une détermination intestinale et la même localisation des microbes, fait considérable, leur évolution n'est pas celle des maladies de l'homme. Et d'ailleurs, il ne faut pas le perdre de vue, l'efficacité de procédés de vaccination, quels qu'ils soient, ne saurait être définitivement prouvée que par l'expérimentation sur l'espèce qu'il s'agit de protéger.

Cette opinion est celle de Besredka lui-même, que nous avons tenu à mettre, dès leur début, au courant de nos expériences et qui nous a complaisamment fourni, pour certaines d'entre elles, ainsi que nous le verrons, des préparations que

(1) Cf. L. Vaillant. Ces *Annales*, **26**, n° 2, février 1922, p. 149.

nous avons utilisées. Nous l'en remercions et nous le remercions aussi de l'intérêt qu'il n'a cessé de porter à nos recherches.

De tout ce qui précède et que nous devions rapporter, une conclusion se dégage donc, c'est que, pour juger un procédé de vaccination applicable à l'homme, il faut s'adresser à l'homme.

L'expérimentation sur notre espèce doit être proscrite, lorsqu'il s'agit de maladies menaçant la vie ou pouvant altérer la santé de façon durable. C'est ainsi que vis-à-vis de la fièvre typhoïde, du choléra, de la peste, l'abstention ne saurait être que formelle. Mais, à côté de ces graves infections, il en existe de bénignes et dont les causes et les localisations sont analogues. Il en existe que la thérapeutique nous offre les moyens de combattre à peine déclarées. L'expérimentation sur elles, cessant d'être nocive, est possible. Telles sont les deux infections, dont nous avons fait choix dans nos recherches : la dysenterie bacillaire qu'une injection du sérum spécifique suffit en quelques heures à enrayer, la fièvre méditerranéenne à laquelle le personnel de nos laboratoires paie un tribut presque fatal (8 cas de contamination en dix-neuf ans à l'Institut Pasteur de Tunis) et que la vaccinothérapie nous permet aujourd'hui de combattre.

Ces deux maladies ont cet avantage, au point de vue qui nous occupe, de représenter deux types d'infection très différents, tant par la porte qui sert d'entrée à l'agent pathogène que par ses localisations et par l'évolution du mal. La dysenterie est une maladie strictement locale ; elle se prend par le tube digestif et frappe seulement celui-ci ; dans aucun cas, le microbe n'envahit le sang et les organes ; la durée n'est jamais longue. La fièvre méditerranéenne, affection souvent prolongée, se déclare à la suite d'une contamination, soit de la peau, soit d'une muqueuse, principalement de la digestive (ingestion du lait de chèvres malades) ; quelle que soit la porte d'entrée, le microbe envahit l'organisme, on le retrouve dans le sang à toutes les périodes fébriles ; il y a donc septicémie ; en outre, si ce microbe se fixe sur certains organes (rate, moelle des os, ganglions, articulations), ce n'est jamais spécialement sur la muqueuse digestive. Il n'y a pas lieu de

penser que celle-ci joue un rôle dans la production des anticorps, alors que ce rôle est le sien, autant qu'on le peut supposer, dans la dysenterie.

Si donc la méthode des vaccins introduits par voie buccale donne des résultats pour la prévention de deux maladies aussi dissemblables, tout porte à penser que la même méthode donnera des résultats pareils pour la prévention d'autres infections de type plus ou moins voisin et vis-à-vis desquelles l'expérimentation humaine n'est pas possible. Il semble légitime, en particulier, de croire que ce qui vaut pour la dysenterie et la fièvre méditerranéenne vaudra tout autant pour la fièvre typhoïde.

VACCINATION PRÉVENTIVE DE L'HOMME CONTRE LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE

Aucune recherche sur la vaccination préventive de l'homme contre la fièvre méditerranéenne n'avait été poursuivie avant les nôtres. L'utilité de la connaissance d'une telle méthode s'impose pourtant dans des pays, comme la Tunisie, où la fièvre méditerranéenne non seulement est endémique, mais en voie d'extension par suite de la contamination progressive du troupeau des chèvres laitières.

Nous avions, en outre, une raison directe de nous intéresser à la solution de ce problème ; c'est le tribut payé par le personnel de l'Institut Pasteur de Tunis à la fièvre méditerranéenne. Nous avons cité plus haut les chiffres des contaminations de notre laboratoire : 8 cas, dans un délai de dix-neuf années.

On peut dire, qu'à de rares exceptions près, les agents du personnel de l'Institut Pasteur, que leur service a mis en contact avec les cultures de *M. melitensis* ou les animaux d'expérience ont, tôt ou tard, contracté la maladie. L'un d'eux même l'a contractée deux fois. Aussi avons-nous trouvé facilement dans notre entourage des sujets volontaires.

Avant d'étudier l'action préventive d'un vaccin, introduit par la voie digestive, nous avons cherché s'il était possible de vacciner l'homme par un vaccin sous-cutané.

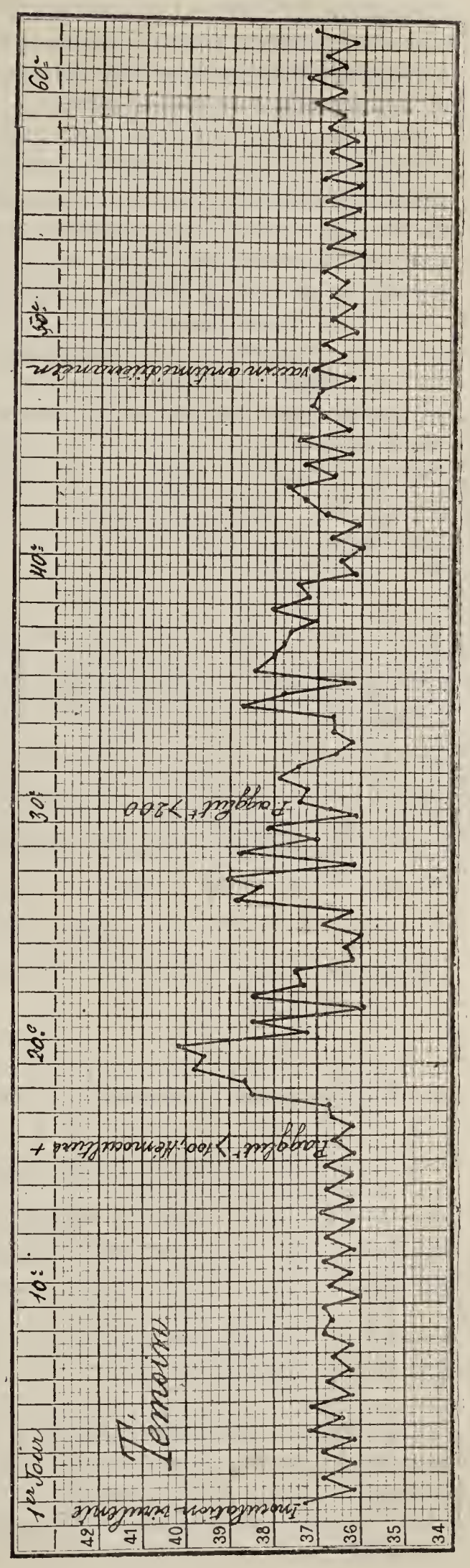
Vaccination préventive de l'homme par voie sous-cutanée.

Nos expériences nous ont montré qu'il était facile de réaliser cette vaccination (1).

Trois personnes, 1, 2, 3, appartenant à la race indigène de Tunisie, qui ne consomme pas de lait de chèvres et chez qui la fièvre méditerranéenne est exceptionnelle, sont examinées, le 2 juin 1920 au point de vue des propriétés agglutinantes de leur sang vis-à-vis du *M. melitensis*. Ce pouvoir se montre nul chez 1 et 2, positif a 10 seulement (sans valeur) chez 3, qui sera le témoin.

Le même jour, 1 et 2 reçoivent sous la peau 1 cent. cube d'un vaccin constitué par le mélange, en proportions sensiblement égales, d'émulsions de cultures de *M. melitensis* appartenant à cinq souches, deux d'origine caprine (M^4, M^5) et trois d'origine humaine (Tr. Dom et H). Leur isolement remonte à des délais variant de un an à dix-huit ans. Ce vaccin est titré à 900 millions de germes par centimètre cube. Il a été préparé avec des cultures de vingt-quatre heures sur agar, centrifugées t lavées, puis émulsionnées dans la solution physiologique de fluorure de sodium à 7 p. 1.000, exposées quatre jours à 37°, puis deux à 50°. Leur stérilité a été vérifiée ensuite. Le 9 juin, soit sept jours plus tard, deuxième inoculation de même dose du même produit aux mêmes personnes.

Le 23 juin, quatorzième jour, le



Courbe 1.

(1) Ch. Nicolle et E. Conseil, Vaccination préventive de l'homme contre la fièvre méditerranéenne. *C. R. Acad. des Sciences*, 171, p. 775, séance du 26 octobre 1920.

pouvoir agglutinant du sang du 1 est de 10, celui du 2 est nul. Le même jour, on inocule sous la peau des deux vaccinés et du témoin 3 une émulsion de microbes vivants constituée par quatre des souches utilisées pour le vaccin (les deux caprines, Dom et H) et une d'origine humaine isolée par hémoculture d'un cas tout récent.

Les vaccinés 1 et 2 n'ont pas contracté la fièvre méditerranéenne; le 1 n'a réagi ni aux inoculations de vaccin, ni à celle d'épreuve; le 2 a présenté une légère tuméfaction locale et quelques dixièmes de degré d'élévation thermique à la suite des inoculations vaccinales. Leur sang, examiné vingt et trente-deux jours après l'épreuve virulente, n'a montré aucun pouvoir agglutinant; les mêmes jours, les hémocultures ont été négatives.

Le témoin 3 n'a pas réagi à l'inoculation d'épreuve; il est demeuré dix-sept jours indemne. Le dix-huitième, a débuté une fièvre méditerranéenne typique, caractérisée par trois ondes fébriles assez courtes. Traité par la vaccinothérapie spécifique, le malade a guéri en peu de jours (*courbe* 1).

Fait intéressant, chez lui, le développement du pouvoir agglutinant et la présence dans son sang du *M. melitensis* (décelée par l'hémoculture) ont précédé de deux jours le début de l'élévation thermique. Le pouvoir agglutinant était alors supérieur à 100; il dépassait 200, au troisième jour de la maladie clinique.

Cet essai prouve qu'il est aisé de vacciner préventivement l'homme contre la fièvre méditerranéenne par l'inoculation sous-cutanée de cultures mortes et qu'il y a lieu d'employer désormais ce moyen si simple à la protection du personnel des laboratoires contre les contaminations. Il sera prudent en pratique de répéter les inoculations, car l'immunité conférée ne saurait avoir une longue durée. C'est ainsi qu'un de nos collaborateurs, ayant reçu une dose unique et faible de vaccin, a contracté la fièvre méditerranéenne moins de cinq mois après la vaccination.

Vaccination préventive de l'homme par voie digestive.

Le vaccin, employé dans nos nouveaux essais, a été préparé au moyen des mêmes souches de *M. melitensis* que dans les expériences précédentes : Culture sur agar, émulsion en eau physiologique, titrée à 900 millions au cent. cube, non lavée. La stérilisation est obtenue par un chauffage d'une heure à 72°-75° et vérifiée.

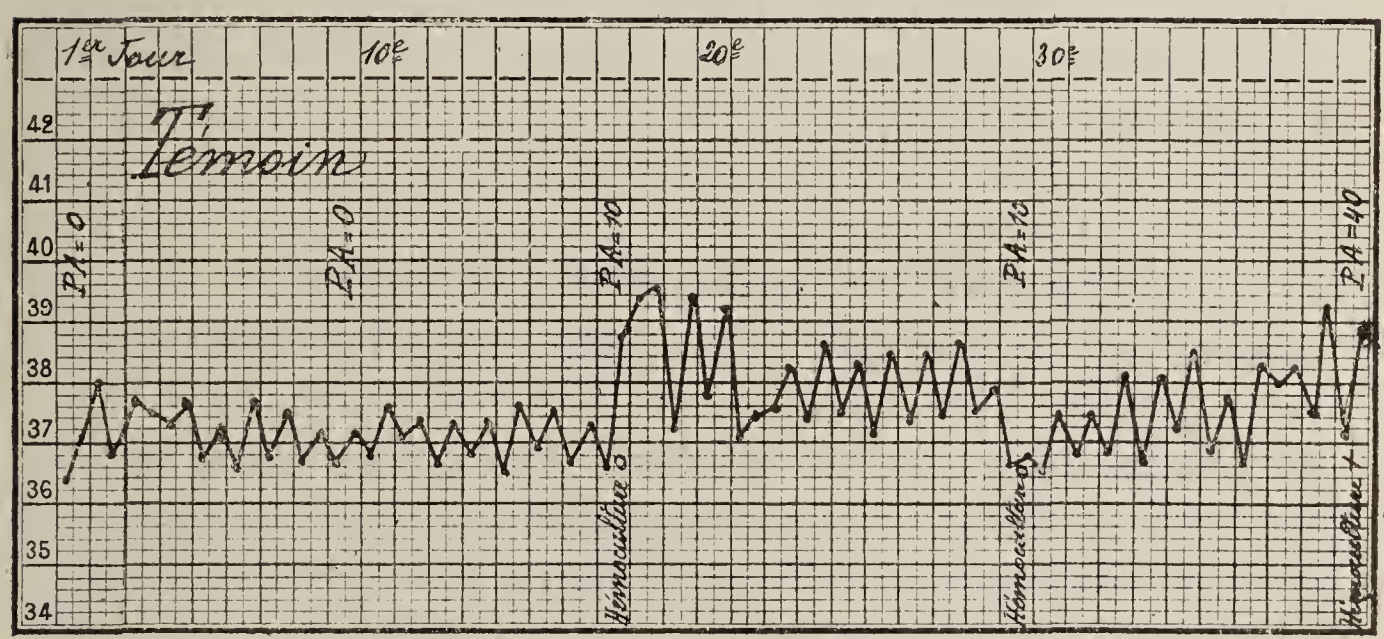
Trois sujets volontaires A, B, C, ne présentant pas de pouvoir agglutinant vis-à-vis des échantillons de *M. melitensis* des cinq souches et ne consommant pas de lait de chèvre.

Les 29, 30 et 31 octobre 1920, puis le 2 novembre (c'est-à-dire trois jours consécutifs et le cinquième jour) les sujets A et B absorbent chacun

100 milliards de corps microbiens de l'émulsion vaccinale. La prise du vaccin a lieu chaque fois à onze heures, les sujets ayant été mis à la diète depuis la veille au soir à seize heures (soit pendant dix-neuf heures); ils y sont encore maintenus jusqu'à seize ou dix-sept heures (soit pendant cinq ou six heures). L'absorption du vaccin n'a pas occasionné le plus petit trouble digestif ou autre; la température, prise régulièrement, est restée normale.

Le 17 novembre, soit quinze jours après la dernière prise de vaccin, les sujets A et B, dont le sang ne présente aucun pouvoir agglutinant, ainsi que le sujet C témoin, reçoivent par voie sous-cutanée une émulsion constituée par le mélange des cinq souches qui ont servi à la préparation du vaccin (émulsion en eau physiologique de cultures sur agar de vingt-quatre heures). La quantité inoculée est de 450 millions de *M. melitensis* vivants.

Aucune réaction consécutive, même thermique, même chez le sujet neuf.



Courbe 2.

Le 25 novembre (huitième jour de l'épreuve), aucun pouvoir agglutinant chez A, B, C; les hémocultures, tentées chez les trois, sont négatives.

Le 3 décembre (dix-septième jour après l'épreuve), le témoin présente pour la première fois une élévation thermique (38°8 au soir), prélude d'une infection méditerranéenne typique. Le même jour, son pouvoir agglutinant est de 10, A et B n'en montrent toujours aucun et les trois hémocultures sont négatives. Mêmes constatations chez les trois sujets le 15 décembre, jour où la première onde fébrile du témoin prend fin. La température remonte chez lui après trois jours d'apyrexie. Le 25 décembre, mêmes résultats négatifs des recherches chez les deux vaccinés, qui sont demeurés définitivement indemnes et n'ont jamais montré de pouvoir agglutinant du sang sur aucun des échantillons de *M. melitensis* utilisés.

Ce même 25 décembre, le témoin donne une hémoculture positive, preuve définitive de l'infection, évidente d'autre part à l'examen clinique. Le pouvoir agglutinant de son sang demeure peu élevé; recherché sur les divers échantillons qui ont servi à l'épreuve, il se montre nul sur M^4 M^5 et H, positif à 20 sur Tr, à 40 sur Dom. La preuve de l'infection du témoin étant obtenue, nous commençons son traitement par les inoculations journalières d'un vaccin antiméditerranéen. La chute de la température à la normale a été obtenue en dix jours (*courbe* 2).

Il est donc possible de vacciner l'homme préventivement contre la fièvre méditerranéenne par voie digestive aussi bien que par voie sous-cutanée. La même réserve, que nous avons signalée à propos de cette dernière méthode, s'impose au cas où l'on adopterait la première. L'immunité conférée ne saurait être de longue durée. Il faudrait recommencer souvent les prises de vaccin. Signalons la différence considérable des doses de corps microbiens employés dans nos deux essais; 1.800 millions par voie sous-cutanée (en deux fois), 400.000 millions par voie digestive (en quatre prises). Nous retrouverons des chiffres analogues dans nos expériences de vaccination antidysentérique et nous dirons ce qu'il faut penser des doses à employer en pratique.

VACCINATION PRÉVENTIVE DE L'HOMME CONTRE LA DYSENTERIE BACILLAIRE (A BACILLE DE SHIGA)

La connaissance d'une méthode de vaccination à la fois inoffensive et efficace contre la dysenterie bacillaire réaliserait un énorme bénéfice pour l'humanité. La dysenterie est en effet une maladie grave, très répandue et endémique dans bien des régions du globe, où elle donne lieu, lorsque les conditions sont favorables, à des explosions épidémiques.

Dès que les méthodes de laboratoire ont permis d'espérer un effet vaccinant de l'inoculation de cultures microbiennes mortes, on s'est efforcé dans plusieurs laboratoires de préparer de tels vaccins et de les essayer sur l'homme en employant les voies ordinaires (sous-cutanée et intramusculaire). La toxicité des cultures du bacille de Shiga n'a pas permis de généraliser sans inconvénient cet emploi. Alors que les vaccins antipesteux, anticholérique, antiméditerranéen sont supportés sans réaction appréciable, que l'antityphoïdique, déjà toxique, donne des réactions générale et locale en somme supportables et qui ne s'opposent point en tout cas à son application bienfaisante, les vaccins antidysentériques ont dû être abandonnés ou réservés à des cas exceptionnels.

La toxicité du bacille de Shiga est due à l'existence dans sa constitution d'une endotoxine spéciale. Celle-ci détermine une

inflammation locale, violente et, pour peu que la dose soit élevée, un foyer de nécrose. Les symptômes et les lésions du tube digestif dans la dysenterie ne sont autre chose que le résultat de l'action de ce poison sur la muqueuse de l'intestin. Les microbes morts se montrent sensiblement aussi toxiques que les microbes vivants.

Devant ces constatations, plusieurs chercheurs se sont efforcés de découvrir des procédés qui permettent de supprimer ou d'atténuer tout au moins la toxicité du bacille dysentérique.

On sait par de nombreux exemples, concernant d'autres microbes, combien de tels efforts sont décevants. Les substances toxiques, qui entrent dans la constitution des bactéries, sont liées à leur structure même. On ne peut imaginer un bacille dysentérique privé de son endotoxine. Il semble bien, d'autre part, que, sans qu'il y ait identité certaine (ni même probable à notre avis), entre l'endotoxine (il vaudrait mieux dire les endotoxines) d'un microbe et l'antigène vaccinant qu'il contient, ces deux substances sont si bien liées entre elles que tout procédé, qui diminue la toxicité, affaiblit en même temps le pouvoir vaccinant. Les bacilles dysentériques rendus moins toxiques se sont tout naturellement montrés peu immunisants. Nous ne nous sommes point arrêtés longtemps à des recherches que nous estimions inutiles.

Convaincus des grands services que rendrait la vaccination antidysentérique, témoins d'une grave épidémie tunisienne, nous avons préféré au début de nos recherches employer pour la prophylaxie les cultures non modifiées et la voie intramusculaire au risque de réactions violentes. Nous avons ensuite cherché s'il n'existait pas de voies moins pénibles.

Essais de vaccination dysentérique préventive par voie intramusculaire ou sous-cutanée.

Avec un microbe toxique comme le bacille dysentérique, la voie intramusculaire est toujours préférable à la voie sous-cutanée. La création d'un foyer inflammatoire profond n'expose pas aux mêmes inconvénients qu'un foyer identique s'il est superficiel. On a tout à craindre dans ce cas du voisinage avec

l'extérieur et de l'élimination au dehors des parties nécrosées. Nous avons donc choisi la voie musculaire.

D'autre part, l'inoculation de doses trop importantes d'un tel microbe nous a paru devoir être proscrite au moins pour la première inoculation vaccinale. Nous n'avons pas dépassé 250 millions.

Un sujet, qui reçoit dans les muscles de la fesse cette dose de bacilles dysentériques morts (chauffés à 72-75° par exemple), ne présente à la suite aucune réaction générale ou bien une réaction insignifiante. La réaction locale est par contre inévitable, constante. Elle ne se montre pas d'emblée. On n'observe, lors des premières heures, autre chose qu'une sensibilité locale, pas d'empâtement. Celui-ci ne devient appréciable qu'au bout de quarante-huit heures. Il y a donc *incubation*. La réaction commencée progresse ensuite jusqu'au quatrième jour, où elle atteint généralement son maximum. Elle est caractérisée par un œdème étendu (il peut s'étendre à toute la fesse), dur et douloureux. La gêne des mouvements est souvent assez marquée pour obliger au repos, parfois au repos couché. Jamais, quelle que soit l'importance de cette réaction, on ne constate formation d'abcès ou élimination de parties nécrosées au dehors. Vers le cinquième ou sixième jour, l'empâtement régresse; après huit à dix jours, il ne laisse rien de bien appréciable. C'est en somme la même réaction qu'après l'inoculation des vaccins antityphoïdiques, mais plus constante, plus violente et plus durable. Il n'en faut pas davantage pour rendre le procédé inapplicable en pratique. Il ne serait jamais accepté comme méthode obligatoire dans l'armée.

Une seconde inoculation à dose égale ou plus forte (jusqu'à 750 millions), pratiquée à un intervalle de huit ou quinze jours, donne lieu à une réaction locale constante, souvent plus précoce et sensiblement égale.

Malgré les inconvénients reconnus de cette méthode, nous avons eu l'occasion d'en faire un essai en grand. Cet essai n'a pas été poursuivi pour cause de force majeure.

Une très grave épidémie de dysenterie avait sévi pendant l'automne 1915 sur nos troupes du Sud tunisien opposées aux bandes turques et tripolitaines. Des recherches entreprises sur place, en particulier par notre collègue Ed. Chatton, alors

officier des troupes combattantes, avaient montré qu'un certain nombre de ces cas relevaient de l'amibe; la plupart cependant reconnaissaient pour cause le bacille de Shiga, qu'il nous fut possible d'isoler de plusieurs cas en collaboration avec le docteur Blaizot.

Afin d'éviter le retour de cette double épidémie en automne 1916, l'un de nous proposa au médecin inspecteur Emile Calmette, alors directeur du Service de Santé de l'Armée d'Afrique, de soumettre les troupes du Sud tunisien à la vaccination antidysentérique préventive. Un programme fut arrêté d'accord avec MM. les médecins principaux Troché et Darde, successivement directeurs du Service de Santé de la Division d'occupation. L'autorisation fut ensuite donnée par lettre du sous-secrétaire du Service de Santé en date du 23 mai 1916. En raison de son caractère d'essai et de la certitude des réactions, la vaccination ne fut pas déclarée obligatoire. Presque tous ceux, auxquels on la proposa, l'acceptèrent cependant.

Le programme d'immunisation comportait deux inoculations intramusculaires pratiquées à huit jours d'intervalle, la première de 250 millions, la seconde de 750 millions de microbes. Le vaccin était constitué par une émulsion de trois races du bacille de Shiga, toutes les trois isolées de l'épidémie tunisienne de 1915. Cette émulsion était préparée dans une solution physiologique de fluorure de sodium à 7 p. 1.000 et stérilisée par un séjour à 50° de quarante-huit heures. Les corps microbiens avaient été au préalable centrifugés et lavés.

L'application fut confiée au docteur Blaizot. Commencée à Médenine, le 27 juin 1916, elle dut être interrompue le 29 par suite d'un mouvement des bandes ennemies. Il y eut 918 militaires vaccinés; mais ils ne reçurent qu'une seule inoculation. A ce total, il faut ajouter 99 aviateurs et 1 médecin aide-major, inoculés à Tunis au moment de leur départ pour le Sud, ce qui porte à 1.018 le nombre des vaccinés de cette expérience en grand, la seule qui ait été tentée en pays français.

Les effets immmédiats de l'inoculation furent ceux que nous avons décrits : réaction constante, souvent vive, parfois violente; aucune complication ou accident sérieux cependant. Un certain nombre d'exemptions de service fut nécessaire; la majorité des aviateurs ne put partir de Tunis au jour indiqué.

Les résultats n'ont pu être établis. La dispersion des militaires de tous corps, qui suivit l'inoculation vaccinale, ne permit pas de les suivre. L'automne 1916 vit peu de cas de dysenterie; aucun, autant que nous avons pu nous en assurer, sur les vaccinés, qui ne comptaient guère à l'effectif du front tripolitain que pour un douzième. D'autres mesures prophylactiques, parmi lesquelles la stérilisation des eaux, avaient été arrêtées par M. le médecin principal Troché. C'est à elles qu'on doit attribuer la non-reviviscence de l'épidémie de l'automne précédent. Si la vaccination y joua un rôle, il fut limité à une partie du contingent et demeure obscur.

L'intérêt de cette expérience fut de montrer sur une vaste échelle comment se comportait la méthode. Nous estimons, pour notre part, que, malgré ses inconvénients, elle serait à répéter dans une occasion pareille, si nous n'en avions pas de préférable.

Cet essai en grand nous permit d'ailleurs d'apporter à la technique une heureuse modification, qu'il serait aisé de généraliser en cas semblable. Mettant à profit les quarante-huit heures d'incubation, qui séparent le moment de la piqûre de celui où la réaction s'affirme, nous essayâmes l'action du sérum antidysentérique sur l'œdème. Cette action est très favorable. Il suffit généralement de l'inoculation de 2 cent. cubes de sérum pour arrêter la réaction en quelques heures, pourvu que cette inoculation soit faite avant la quarante-huitième. Cette pratique s'imposerait, si l'on devait avoir encore recours à la vaccination antidysentérique par voie intramusculaire.

Essais de vaccination antidysentérique préventive par voie veineuse.

Il était naturel, devant la violence de la réaction locale, de chercher à l'éviter par le choix d'une autre voie; la voie veineuse d'abord. Nous n'avons pas attendu la constatation personnelle des inconvénients de la voie intramusculaire pour l'essayer.

Nos premiers essais de vaccination dysentérique par introduction directe des microbes dans le sang remontent à 1912. Ils ont suivi immédiatement nos essais de vaccination anticho-

lérique et antityphoïdique par la même voie. Nous employions alors de préférence les microbes vivants, inoffensifs lorsqu'ils sont inoculés à l'état d'émulsion très étendue dans le torrent circulatoire. Nous n'insisterons pas ici sur les avantages de la méthode; nous les avons autrefois publiés (1). Bornons-nous à répéter qu'à notre avis les sujets inoculés de microbes vivants possèdent l'immunité la plus voisine de celle qui suit une atteinte de la maladie naturelle.

1° Avec les microbes vivants.

Première expérience. — Le 6 février 1912, à 10 heures du matin, un sujet reçoit en inoculation intraveineuse une émulsion de 70 millions de bacilles dysentériques dans 50 cent. cubes d'eau physiologique. Les microbes, cultivés sur agar, ont été recueillis après vingt-quatre heures, puis centrifugés et lavés, afin d'obtenir une émulsion homogène. Le bacille dysentérique utilisé est un échantillon tunisien (D4), isolé en 1905. Vers midi, réaction générale : vertige, malaise, courbature. A 18 heures, la température est de 39°3, le vacciné peut manger légèrement et il dort bien. Le lendemain, ayant forcé son appétit, il vomit une fois ; la température est de 38°8 le matin, de 38°5 le soir; une selle liquide où le bacille dysentérique n'a pu être retrouvé; quelques vertiges encore et manque d'appétit le soir. Le troisième jour, tout est rentré dans l'ordre.

Deuxième expérience. — Le sujet reçoit, le 30 mars 1912, une émulsion de bacilles dysentériques bien lavés de la même origine que le premier, mais à la dose de 25 millions seulement et dilués dans 50 cent. cubes d'eau physiologique; réaction nulle, constipation. Le 9 avril, une seconde inoculation est pratiquée de même manière; mais l'émulsion est portée à 150 millions, aucune réaction.

Troisième expérience. *Immunité du vacciné vis-à-vis de l'épreuve virulente.* — Comme dans les deux expériences qui précèdent, le sujet appartient à la race indigène. Le 1er mai 1912, inoculation intraveineuse de 75 millions bien lavés du même bacille dysentérique (D4) dans 20 cent. cubes d'eau physiologique. (Nous avons réduit la quantité d'eau physiologique employée, comme véhicule, lorsque nous nous sommes aperçus qu'il n'était pas nécessaire de diluer à ce point des microbes qui se trouvent, si l'injection est poussée lentement, dilués à l'extrême dans le sang.) Réaction nulle.

Le 11 mai, seconde inoculation pratiquée de même manière, mais qui comporte 300 millions de microbes; réaction également nulle.

Le 21, le sujet vacciné est soumis à l'ingestion de 20 milliards de bacilles dysentériques d'une autre souche, isolée en 1909 (DLG), en même temps

(1) Ch. Nicolle, A. Conor et E. Conseil, Sur l'injection intraveineuse du vibrion cholérique vivant. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, **154**, p. 1823, 24 juin 1912. — De l'inoculation intraveineuse des bacilles typhiques morts à l'homme, *Ibidem*, **155**, p. 1037, 18 Novembre 1912. — Inoculation de bacilles typhiques vivants, *Ibidem*, **157**, p. 147, 15 juillet 1913.

qu'un témoin européen. Le vacciné n'a présenté aucun symptôme; le témoin a montré une diarrhée légère le 22 et le 23, une selle dysentérique le 24. Traité par le sérum antidysentérique, sa diarrhée s'est arrêtée aussitôt. Bien que l'isolement du bacille dysentérique n'ait pas été réalisé des selles de ce malade (un seul examen en a été fait le 22), nous estimons qu'il a bien contracté la dysenterie. Par contre, instruits par les raisons que nous exposerons plus loin, et qui procèdent de la sensibilité différente des races indigène et européennes de Tunisie, nous ne saurions avancer qu'une telle expérience prouve que les inoculations intraveineuses ont bien dans ce cas été la seule cause de la résistance du sujet, peut-être déjà réfractaire.

L'expérience, pour n'être pas concluante, nous paraît cependant instructive, et nous sommes persuadés que la voie veineuse permettrait de vacciner l'homme contre la dysenterie. La substitution de cette voie à la musculaire aurait l'avantage de supprimer la réaction locale, mais l'inconvénient de produire une réaction générale, supportable avec les doses faibles que nous avions inoculées dans les expériences qui précèdent, non négligeables avec les doses plus élevées employées dans les essais dont l'exposé suit.

La recherche des anticorps n'avait été pratiquée sur aucun des trois sujets dont l'observation vient d'être rapportée.

Quatrième expérience. — On lira plus loin l'exposé des difficultés auxquelles nous nous sommes heurtés, lorsque nous avons voulu établir une méthode qui permette de reproduire à coup sûr la dysenterie chez l'homme, afin de juger, par l'infection des témoins, de l'efficacité de la voie digestive comme moyen d'introduction du vaccin. Les expériences précédentes avaient pour objet d'immuniser les sujets soumis aux injections; l'expérience que nous rapportons avait le but inverse. C'est pourquoi les doses de microbes inoculés ont été plus considérables. Nous donnons cette expérience ici, afin de ne pas avoir à constituer pour elle un chapitre spécial.

Le sujet, qui ne présente aucun pouvoir agglutinant normal vis-à-vis de l'échantillon employé (DB, origine Besredka, isolé depuis un mois), reçoit le 23 septembre 1919, à 18 heures, en émulsion homogène 450 millions de bacilles dysentériques vivants. Réaction rapide, vive : frissons, vomissements, vertiges, accélération des mouvements respiratoires; à 22 heures selle diarrhéique, la température atteint 41°. Le lendemain, abattement, diarrhée non dysentérique, c'est-à-dire sans glaires et non douloureuse; la température reste supérieure à 40°. Le 25, la diarrhée persiste avec les mêmes caractères négatifs, la recherche du bacille dysentérique dans les selles est tentée sans résultat; la température est retombée à la normale. Le lendemain 26, la diarrhée a pris fin, l'état général est bon, la langue humide; la température est remontée à 38°; deux jours plus tard, tout est rentré dans l'ordre. Recherché le 6 octobre, le pouvoir agglutinant vis-à-vis du bacille dysentérique employé est de 100.

Il ressort de cette expérience que, si des doses relativement élevées de cultures dysentériques sont incapables de réaliser l'infection dysentérique chez l'homme (des doses plus élevées encore y parviendraient peut-être), la réaction qui suit l'inoculation est trop vive pour que la méthode soit susceptible d'être utilisée pour la vaccination. Cette réaction n'est pas liée à l'état

de vie des microbes inoculés; elle se rencontre sensiblement égale lorsqu'on emploie les microbes morts.

2° Avec les microbes morts.

Première expérience. — La souche du bacille dysentérique utilisée (DB) nous a été aimablement adressée par Besredka, elle avait été isolée quatre mois auparavant.

Le 16 janvier 1920, le sujet reçoit à 18 heures une émulsion de 450 millions de microbes tués par le chauffage à 65° (deux heures). A 21 heures, réaction générale assez vive, la température atteint 39°4; le lendemain 17, elle est de 38° au matin, de 38°2 le soir. Le troisième jour, tout est rentré dans l'ordre. Il n'y a pas eu de diarrhée. Le pouvoir agglutinant du sang du sujet vis-à-vis du bacille dysentérique inoculé, qui était nul avant l'inoculation, est monté le 30 janvier à 20. Ce même jour, le malade est éprouvé par l'inoculation intrarectale de 40 milliards de bacilles dysentériques; il résiste. Nous verrons plus loin que ce résultat ne saurait prouver que ce soit à l'inoculation vaccinale qu'il ait dû son immunité.

Deuxième expérience. — Faite le même jour et dans les mêmes conditions que la précédente. La réaction fut seulement plus vive; le thermomètre à 21 heures atteint 40°, on note des vomissements et de la diarrhée. Celle-ci persiste le lendemain sans caractères dysentériques; la température atteint encore 38°4 le matin et le soir, le sujet se plaint de fatigue. Cet état persiste deux jours, puis tout rentre dans l'ordre. Il n'a pas tenté d'épreuve virulente sur le sujet.

3° Avec les microbes vivants après ingestion de bile de bœuf.

Expérience unique. — Cette expérience, calquée sur celles que Besredka avait instituées pour rendre sensible le lapin à l'infection et à la vaccination par le bacille paratyphique B, a été réalisée par nous avec un matériel fourni entièrement par notre collègue : échantillon DB, isolé récemment par lui en France, et cachets de bile de bœuf stérilisée à 120° de 15 centigr.

Le sujet absorbe le 9 décembre 1919 deux de ces cachets sans aucun inconvénient; même pratique le 10 au matin parfaitement anodine. Ce jour, à 17 heures, il reçoit 450 millions de bacilles dysentériques dans les veines. Réaction rapide assez vive; mais, malgré l'ingestion préalable de bile, moindre que chez le sujet inoculé de même dose du même microbe DB et dont l'observation précède. La température, non prise le soir du premier jour, est de 38°8 le lendemain au matin, de 39°2 le soir; pas de diarrhée; de la fatigue. Cet état persiste encore un jour et tout rentre dans l'ordre. Le pouvoir agglutinant vis-à-vis du bacille dysentérique employé, qui était nul avant l'inoculation, atteint, le 26 décembre, 100 sur les échantillons DB et DA.

Soumis, le même jour, à une épreuve virulente par voie rectale, ce sujet n'a pas contracté la dysenterie. Nous verrons

plus loin pour quelles raisons nous ne saurions conclure que sa résistance fut l'effet de l'inoculation vaccinante seule.

Conclusions générales sur ces essais de vaccination par voie veineuse.

La conclusion générale, qui se dégage de ces expériences, est que, si la voie veineuse offre ce grand avantage sur la voie intramusculaire de mettre le sujet à l'abri d'une réaction locale pénible, elle substitue à celle-ci une réaction générale constante, supportable avec des doses minimes (25 à 75 millions) qu'on peut élever sans plus d'inconvénients (150 millions) si l'on pratique ultérieurement une seconde inoculation, mais infiniment vive, lorsque, sur un sujet neuf, on dépasse ces doses et qui, plus forte, donnerait lieu certainement à des troubles inquiétants.

La question de savoir si cette voie est efficace n'a pas été à notre avis tranchée par nos expériences, bien que l'apparence soit en faveur de cette efficacité. Nous aurions pu, en répétant les essais dans les conditions qui nous ont finalement amenés à reconnaître l'efficacité de la voie digestive, arriver pour la voie veineuse à une conclusion pareille. Nous ne nous sommes pas cru autorisés à répéter ces expériences; la réaction qu'elles occasionnent est trop vive. Avec les microbes morts, elle se montre sensiblement aussi marquée qu'avec les microbes vivants.

Nous avions fait des constatations analogues dans nos essais de vaccination anticholérique et antityphoïdique par voie veineuse; mais, dans ces cas, la réaction générale, quoique constante, s'était toujours montrée supportable (1).

Une autre conclusion de ce chapitre, qui confirme celle de nos expériences de même ordre pratiquées avec le bacille typhique et le vibrion cholérique, c'est que l'inoculation intraveineuse des bacilles dysentériques vivants, même à dose toxique (450 millions), se montre incapable de reproduire la maladie naturelle chez l'homme.

(1) Ch. Nicolle, A. Conor et E. Conseil, *loc. cit.*

Vaccination antidysentérique de l'homme par voie digestive.

Lorsque nous avons entrepris, après ces essais par voies intramusculaire et veineuse, d'étudier l'action chez l'homme des vaccins digestifs, nous nous sommes heurtés à une difficulté imprévue : l'impossibilité de reproduire, autrement que dans des cas exceptionnels, la maladie chez les sujets témoins. La résistance ordinaire des témoins rend les résultats d'une expérience de vaccination très suspects.

Cette difficulté de reproduction expérimentale de la dysenterie chez l'homme tient à deux raisons, qui nous sont apparues successivement, qui souvent s'additionnent et desquelles il est délicat de savoir quelle est, dans un cas particulier, la seule ou la plus importante. Ce sont la fragilité de la virulence en culture du bacille dysentérique et la résistance des sujets appartenant à la race indigène de la Tunisie. Tant que cette dernière notion ne nous est pas apparue avec évidence, nous n'avons pu mener à bien nos essais. La fragilité de la virulence des cultures dysentériques était au contraire un inconvénient avec lequel nous nous doutions bien avoir à compter.

Essais de reproduction de la dysenterie par voie digestive.

Nous diviserons l'exposé de nos tentatives suivant qu'elles ont eu pour sujets des Européens ou des indigènes, les uns et les autres volontaires.

1° Essais sur des Européens.

Ces essais ont été au nombre de cinq, 3 en 1912, 2 en 1921.

En 1912, l'ingestion du bacille dysentérique DLG, isolé deux ans auparavant d'un cas autochtone, a déterminé chez un premier sujet à la dose infiniment faible de 25 millions, introduits par la bouche, une dysenterie rectale de quelques jours de durée, guérie sans inoculation de sérum, dans laquelle la présence du bacille dysentérique n'a pas été cherchée et, chez les deux autres, à la suite de l'ingestion de 5 à 10 milliards du même échantillon DLG, une dysenterie typique avec présence du bacille de Shiga, arrêtée en vingt quatre heures par une inoculation du sérum spécifique.

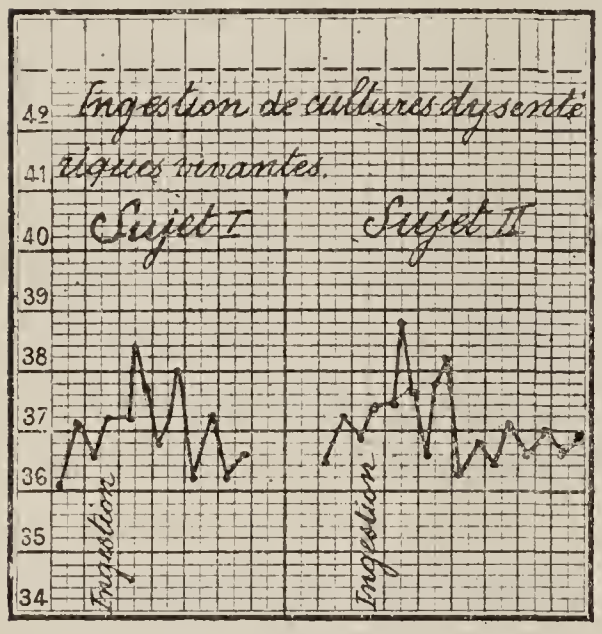
Les deux cas de 1921 sont ceux des témoins de l'expérience démonstrative, par laquelle se termine cet article. Le bacille dysentérique utilisé était d'isolement tout récent. Nous renvoyons pour les détails à l'exposé de cette expérience.

Donc, en résumé, chez des Européens 5 essais, 5 résultats positifs, dont deux avec des cultures d'isolement tout récent.

2° Essais sur des indigènes.

A. *Par voie buccale sans préparation par la bile* : 4 essais, 4 échecs.

Le *premier sujet* absorbe le 6 octobre 1919 une émulsion de cultures du bacille dysentérique DB (origine Besredka, date d'isolement deux mois). La dose ingérée à jeun est de 8 milliards de bacilles jeunes (culture sur agar de vingt-quatre heures). Aucun trouble digestif à la suite; recherche du bacille dysentérique dans les selles (moulées) négative. Le pouvoir agglutinant du sang, qui était nul chez le sujet avant l'ingestion, est demeuré nul par la suite. Cependant, fait curieux et qui sera remarqué aussi chez le second sujet, après l'ingestion le thermomètre a traduit, en l'absence de tout autre symptôme apparent, un léger degré de réaction générale : ascension à 38°2 le matin du jour qui a suivi l'ingestion, à 38° encore le soir du lendemain. Cette faible réaction thermique est, à notre avis, l'indication nette du travail de destruction des microbes qui s'est opéré dans la muqueuse intestinale.



Courbes 3 et 4.

Le *second sujet*, soumis le même jour au même essai, a réagi exactement comme le premier. Aucun trouble consécutif; seule, une faible réaction thermique parallèle : 38°8 le lendemain matin, 38°2 le soir du surlendemain. Nous donnons les courbes de ces deux sujets (*courbes* 3 *et* 4). Un *troisième* et un *quatrième essai* négatifs du même ordre ont été réalisés par nous, en novembre 1921, avec un échantillon d'origine française, qui nous avait été adressé par notre ami Lebailly (épidémie d'un asile d'aliénés de Caen). L'échantillon comptait quatre mois d'isolement; il avait souffert en culture et n'avait pu être repiqué qu'avec peine. L'ingestion de 56 milliards de ce microbe n'a rien donné, ni symptômes, ni développement du pouvoir agglutinant, ni, cette fois, de réaction thermique appréciable.

A ces essais négatifs sur des sujets indigènes ajoutons un essai, négatif également, sur le macaque : l'ingestion de

18 milliards de l'échantillon DA (origine Besredka, isolé depuis un an et demi) n'a rien donné.

B. *Par voie buccale après préparation par la bile de bœuf :* 2 essais, 2 échecs.

Le *premier sujet* ingère le 6 décembre 1919, à 16 heures, deux cachets de bile de 50 centigrammes (il est à jeun depuis dix heures) ; le lendemain soir, il prend un cachet semblable à 7 heures et, le même jour, à 22 heures (n'ayant rien pris depuis midi), il absorbe 13 milliards d'un mélange de 3 souches de bacille dysentérique (échantillons DA et DB de Besredka comptant trois ou quatre mois d'isolement, échantillon autochtone récent). Résultat négatif, sauf une légère élévation thermique le lendemain (38°). Le pouvoir agglutinant, nul avant l'expérience, atteint le 24 décembre 20 sur l'échantillon DB et 10 à peine sur les échantillons DA et tunisien. Ce sujet a été éprouvé ensuite par voie rectale ; il a résisté. Nous dirons plus loin pourquoi ce résultat négatif ne peut être considéré comme prouvant l'efficacité de la voie digestive en matière de vaccination.

Le *second sujet*, traité comme le premier, s'est comporté de même. Son pouvoir agglutinant, nul avant l'expérience, était le 24 décembre de 10 sur les échantillons DA et DB et nul sur le tunisien.

C. *Par voie rectale* : 3 essais, 2 résultats positifs, dont 1 à longue échéance (dix-sept jours), 1 négatif.

Le *premier sujet* reçoit le 16 décembre 1919, par voie rectale à la sonde, une émulsion de 40 milliards du bacille dysentérique DA (origine Besredka, isolement datant de quatre mois) dans 150 cent. cubes d'eau physiologique). Le lendemain diarrhée nettement dysentérique, présence constatée du bacille de Shiga, température normale ; elle monte le 18 à 38°5. Une inoculation de sérum antidysentérique est pratiquée alors et suffit à arrêter tout symptôme. Le pouvoir agglutinant, nul avant l'ingestion, est sur l'échantillon DA de 20 le 26 décembre, de 50 le 6 janvier ; il est retombé à 20 le 16 de ce même mois.

Même essai sur le *deuxième sujet* avec cette seule différence que l'échantillon de bacille dysentérique utilisé est DB (origine Besredka, isolement datant de trois mois). Le sujet ne témoigne d'abord aucun trouble ; la température demeure normale ; mais, le 2 janvier, soit dix-sept-jours après l'expérience, il montre des selles glaireuses, légèrement sanguinolentes et desquelles le bacille dysentérique est isolé. Cet état d'ailleurs très bénin dure au total trois jours pendant lesquels le thermomètre monte deux fois à 38° ; la guérison survient le quatrième jour, sans qu'il ait été utile d'inoculer du sérum antidysentérique. Le pouvoir agglutinant, nul avant l'injection, était le 16 janvier de 10 sur l'échantillon DB.

Le *troisième sujet* a reçu le 30 janvier 1920, à jeun sans résultat par voie rectale à la sonde, 40 milliards de bacilles dysentériques de l'échantillon DA (origine Besredka, isolement datant de quatre mois), pouvoir agglutinant nul avant et après l'expérience.

D. *Par voies buccale et rectale associées* : 1 essai, résultat douteux avec retard de huit jours.

Le *sujet* a ingéré le 10 avril 1920 à jeun une émulsion contenant 75 milliards du mélange de quatre souches (échantillon DA de Besredka dont l'isolement remonte à huit mois, 3 échantillons d'origine Dumas de dates d'isolement inconnues); en même temps il reçoit à la sonde par voie rectale 150 milliards d'une émulsion des mêmes microbes. Aucun trouble à la suite; mais, le 18 juin, diarrhée avec ténesme d'une durée de deux jours qui, par suite d'une omission, n'a pas été l'objet d'un examen microbiologique. Le pouvoir agglutinant, nul avant l'expérience, était nul encore le 20 avril.

E. *Par voies rectale et buccale associées après préparation par l'ingestion de bile ou l'administration d'huile de croton* : 1 essai négatif pour chaque expérience.

Le *premier sujet* absorbe le 28 juin 1920, à midi et à jeun, deux cachets de bile de 50 centigr.; même absorption le soir même à 16 heures; à 7 heures ingestion de 100 milliards d'une émulsion des mêmes souches dysentériques que dans l'expérience précédente, mais dans laquelle entre en outre l'échantillon DB et en même temps lavement à la sonde contenant 400 milliards des mêmes microbes. Le résultat a été absolument nul. Le pouvoir agglutinant n'a pas été recherché.

Le *second sujet* a été préparé par l'absorption, à 6 heures du matin, le 29 avril 1921, de deux gouttes d'huile de croton dans un loch. Ce médicament détermine un effet purgatif rapide. A 16 heures, ce même jour, il ingère 100 milliards de bacilles dysentériques des échantillons DA et DB (origine Besredka, dates d'isolement sept et huit mois) et une dose égale lui est administrée par voie rectale. Résultat absolument nul. Le pouvoir agglutinant n'a pas été recherché.

3° Vue générale sur ces essais par voie digestive.

Nous avons tenu, malgré la monotonie des termes, à relater toutes nos expériences. Elles constituent un ensemble instructif et qui permet de se rendre compte des difficultés du problème dont nous poursuivions la solution. Il ne suffit pas toujours d'opérer sur l'espèce sensible pour reproduire l'infection. Sans doute certains microbes hautement pathogènes et septicémiques donnent dans l'expérimentation des résultats brutaux. Chez la plupart des microbes, la virulence n'existe que lorsque certaines conditions sont remplies ; elle n'est chez eux qu'une qualité passagère, fragile. La nature, c'est-à-dire l'occasion, la met en évidence, lorsque les facteurs nécessaires se trouvent réunis. Nous sommes portés à croire que ces facteurs se ren-

contrent de façon commune, parce que les faits positifs exceptionnels nous frappent seuls et que nous n'avons nulle notion des ratés, qui sont l'événement de chaque instant. Lorsque nous tentons d'imiter la nature, est-il surprenant que nous comptions surtout des échecs? Nous ne parvenons à copier notre modèle qu'à la condition d'unir les mêmes facteurs que le hasard fait les ouvriers du destin.

Dans la question de la dysenterie, comme dans celle des autres maladies infectieuses, ces facteurs sont de deux ordres : les uns relèvent du sujet, les autres du microbe lui-même.

L'ordre même que nous avons suivi dans l'exposé de nos expériences souligne l'importance du *facteur race*. Elle ne nous est apparue que tardivement. Sur 5 Européens (3 Français, 2 Russes), qui ont servi de témoins à nos expériences, nous notons 5 résultats positifs. Au contraire, un total de 12 essais sur des indigènes ne nous a donné qu'un seul résultat positif rapide et deux résultats retardés (dont 1 douteux) contre 9 insuccès. Il est à noter que la voie rectale, associée ou non à l'ingestion, s'est montrée pour la race indigène la moins incertaine, puisqu'elle a fourni les 3 cas positifs ou douteux et seulement 3 des cas négatifs (50 p. 100 de succès, au moins relatifs). Il est infiniment probable que cette résistance des indigènes tient à la fréquence de la pollution des eaux des campagnes tunisiennes par le bacille dysentérique et à la vaccination naturelle, par voie précisément digestive, que l'absorption de ces eaux leur assure dès l'enfance et qu'ensuite elle entretient.

La *qualité de la culture microbienne* employée fait le reste. Moins de temps s'est écoulé depuis l'isolement, plus une culture est d'ordinaire active. Ce fait, général pour tous les microbes, est particulièrement vrai pour le bacille dysentérique. Il serait fastidieux d'y insister en mettant en tableau nos résultats et les âges d'isolement des microbes employés. Ce facteur n'est pourtant pas constant. Trois Européens ont pu être contaminées avec des cultures isolées depuis deux années. Il semble que certaines souches dysentériques ou bien soient plus virulentes (question de race) ou bien conservent plus longtemps leur virulence. La quantité de germes ingérés joue évidemment son rôle. Il nous paraît moins important qu'on pourrait le supposer. Nous avons échoué avec une dose de

500 milliards (voies buccale et rectale associées) et réussi avec 25 millions (voie buccale seule).

Sans doute le pouvoir toxique est une des armes du bacille de la dysenterie ; il lui permet, en la lésant, d'attaquer la muqueuse digestive. Cependant virulence et toxicité sont propriétés différentes. L'expérimentation sur le lapin, animal non sensible, a pu faire estimer parfois le contraire. Les essais sur l'homme, seul être réceptif, prouvent qu'il n'en est rien. Nous avons généralement échoué dans nos tentatives de reproduction de la maladie sur notre espèce avec des souches, qui, introduites même mortes dans les veines, se montraient parfaitement toxiques.

En résumé, *les deux conditions essentielles à la reproduction expérimentale de la dysenterie chez l'homme sont la sensibilité du sujet, variable suivant les races, et la qualité du microbe* (souche virulente, récemment isolée). C'est pour n'avoir pas reconnu l'importance du premier de ces facteurs que nous n'avons pu pendant deux ans réaliser une expérience de vaccination vraiment inattaquable.

Expériences non valables de vaccination antidysentérique par voie digestive chez des sujets indigènes.

Bien que ces expériences n'aient pu nous conduire à une conclusion formelle en faveur de l'efficacité de la vaccination par voie digestive, nous croyons utile de les relater. Nous avons employé dans ces essais tantôt des émulsions de cultures (sur agar et de vingt-quatre heures) tuées par le chauffage à 72°-75 (une heure), c'est à dire un vaccin liquide et de préparation récente (quelques jours à un mois), tantôt des comprimés qui nous avaient été adressés par Besredka et qui contenaient les bacilles dysentériques sous forme desséchée (1). Emulsions liquides ou comprimés sont bien supportées ; jamais leur ingestion, même répétée quelques jours de suite, n'a donné lieu au moindre symptôme. Tous nos sujets d'expérience ont été maintenus à la diète quelques heures (au moins quatre) avant

(1) Chaque comprimé contient 5 centigrammes de bacilles dysentériques (Shiga) desséchés.

l'ingestion du vaccin; ce jeûne était prolongé quelques heures ensuite. Avant chaque épreuve virulente, la même précaution a été observée pendant douze heures au moins et prolongée ensuite six heures au minimum.

Première série d'essais.

Cette série a porté sur 3 sujets.

Le 13 janvier 1920 ils absorbent un comprimé Besredka, le lendemain 14 deux, le 15 repos, le 16 ingestion de quatre cachets.

Le 30 janvier (quatorzième jour après la dernière absorption de vaccin), épreuve virulente rectale, 40 milliards de bacilles dysentériques (souche DA). Aucun trouble consécutif, ni diarrhée, ni fièvre, ni troubles généraux, absence de bacilles dysentériques dans les selles. Deux de ces sujets ne présentaient aucun pouvoir agglutinant du sang vis-à-vis du bacille dysentérique DA avant l'expérience, le troisième agglutinait ce microbe à 1 p. 10; ces mêmes résultats ont été observés le 20 janvier, c'est à dire quatorze jours après la dernière absorption de vaccin et le 10 février, onze jours après l'épreuve virulente.

Cette résistance des trois vaccinés ne saurait rien prouver, car un sujet témoin, soumis à la même épreuve, est demeuré lui aussi réfractaire. (L'observation de ce témoin a été donnée plus haut : *Essais de reproduction de la dysenterie par voie digestive*; 2° *Essais sur des indigènes par voie rectale*; troisième sujet.) Dans la même séance, avait été également éprouvé et de même manière un autre sujet dont l'observation a été donnée plus haut et qui avait reçu préalablement une inoculation intraveineuse de 450 milliards de bacilles dysentériques tués à 65°, échantillons DA. (Cf. plus haut 1° *Essais de vaccination antidysentérique par voie veineuse*; 2° *avec les microbes morts*; première expérience.) Ce sujet a également résisté à l'épreuve virulente.

Deuxième série d'essais : 3 sujets.

Le 22 mars 1920 ils absorbent un comprimé Besredka, le 23 deux, le jour suivant repos, le 25 absorption de quatre comprimés. Le 10 avril (seizième jour après la dernière ingestion vaccinale) épreuve virulente avec un mélange de bacilles dysentériques de quatre origines (DB de Besredka, trois de Dumas); cette épreuve a été à la fois buccale (75 milliards) et rectale (150). Aucun trouble consécutif, ni diarrhée, ni symptômes généraux, ni élévation thermique; la présence du bacille dysentérique n'a pas été constatée dans les selles. Aucun de ces sujets ne présentait de pouvoir agglutinant du sang vis-à-vis de l'échantillon DA avant l'absorption du vaccin, même constatation

le 10 avril (quinzième jour après l'absorption du dernier comprimé vaccinal) et le 26 avril (seizième jour après l'épreuve); cette dernière recherche a été faite non seulement sur DA, mais aussi sur chacun des bacilles dysentériques d'origine Dumas et sur le bacille de Shiga originel.

En même temps que ces trois sujets, avait été soumis à l'épreuve buccale et rectale virulente un témoin. Celui-ci n'a présenté d'abord aucun trouble; mais, le 18 avril, ses selles sont devenues diarrhéiques (sans glaires) et il a accusé du ténesme; cet état a persisté deux jours. Par suite d'une omission, les selles n'ont pas été soumises à l'examen microbiologique. La preuve formelle de la dysenterie chez ce témoin manque donc; cependant, tout porte à croire qu'il en a subi une atteinte légère (Cf. cette observation plus haut : 1° *Essais de reproduction de la dysenterie par voie digestive*; 2° *Essais sur des indigènes*; D. *par voies rectale et buccale associées*).

Troisième série d'essais : 2 sujets.

Le 10 juin 1920, ils absorbent un comprimé Besredka, le lendemain 11 deux, le 12 repos, le 13 quatre comprimés. Le 28 juin à midi, ingestion de deux cachets de bile de bœuf (à 50 centigrammes); à seize heures, deux autres cachets. A dix-neuf heures, le même jour, épreuve virulente avec une émulsion de bacilles dysentériques de quatre souches (DA et DB de Besredka, trois souches de Dumas). Cette émulsion est administrée par voies buccale (100 milliards) et rectale (400). Aucun trouble digestif ou autre; la présence des bacilles dysentériques dans les selles (moulées) n'a pas été recherchée. Pouvoir agglutinant vis-à-vis de DA, nul chez les trois sujets avant l'ingestion du vaccin, avant l'épreuve et quatorze jours après celle-ci.

Un témoin, soumis à la même épreuve virulente après absorption de cachets de bile, n'a pas présenté davantage de troubles; aucun pouvoir agglutinant chez lui avant ou après l'expérience. Son observation a été déjà donnée plus haut (1° *Essais de reproduction de la dysenterie par voie digestive*; 2° *Essais sur des indigènes par voies buccale et rectale associées après préparation par l'ingestion de bile*).

Quatrième série d'essais.

Nous pouvons mettre à la suite des trois séries qui précèdent l'observation déjà rapportée d'un sujet qui, après préparation avec la bile et ingestion ineffective de 13 milliards de bacilles dysentériques vivants (échantillons DA et DB de Besredka et échantillon tunisien isolé récemment), a pu être éprouvé un mois plus tard sans présenter aucun trouble par l'inoculation rectale de 40 milliards de bacilles dysentériques de la souche DA. Il n'y a pas eu développement du pouvoir agglutinant après les deux épreuves virulentes (Cf. son observation plus haut : 1° *Essais de reproduction de la dysenterie par voie digestive*; 2° *Essais sur des indigènes*; B. *par voie buccale après préparation par la bile*; premier sujet).

Résumé et conclusions de ces essais.

Les résultats de ces quatre séries d'expériences ont été ceux que nous avions annoncés. Aucun des vaccinés par voie digestive n'a présenté de dysenterie à la suite de l'épreuve virulente; mais, sauf un cas qui laisse des doutes, les témoins aussi sont demeurés indemnes. Si nous totalisons tous les essais que nous avons pratiqués par voie digestive dans le but d'arriver à la reproduction expérimentale de la dysenterie chez les indigènes, en y comprenant les témoins des expériences de vaccination, nous arrivons bien à cette constatation que, tandis que sur 9 vaccinés il n'y a pas eu un seul cas d'infection par suite de l'épreuve virulente, celle-ci a déterminé chez 3 sujets neufs sur 12 une atteinte de dysenterie (certaine dans deux cas dont un retardé, infiniment probable dans le troisième), ce qui fait un résultat positif sur 4, les vaccinés n'en fournissent aucun, alors qu'ils auraient dû en donner proportionnellement 3. Cependant, les conditions des expériences n'ayant point été exactement les mêmes, nous ne nous sommes point cru autorisés à tirer de l'ensemble une conclusion que chaque partie ne prouvait pas.

Pour prouver d'une façon indiscutable l'efficacité de la vaccination contre la dysenterie par voie digestive, il était donc nécessaire de répéter l'expérience sur des sujets de race européenne. C'est à quoi nous nous sommes décidés, en employant en outre une culture d'isolement récent.

Expérience démonstrative de vaccination antidysentérique par voie digestive chez des sujets de race européenne.

Une seule série d'expériences a suffi à la solution du problème. Elle a porté sur 4 sujets : 2 vaccinés, 2 témoins, tous volontaires.

L'échantillon de bacille dysentérique, employé pour la préparation du vaccin et pour l'épreuve, avait été isolé d'un cas typique de dysenterie trois semaines environ avant le début de l'expérience (Echantillon DS).

Les deux sujets destinés à la vaccination ont absorbé, les 3, 4, 5 et 7 décembre 1921, 100 milliards de microbes tués par l'action de la chaleur une heure à 72°, soit 400 milliards au total. L'absorption a été faite chaque

fois à jeun vers dix heures, le malade n'ayant pas mangé depuis la veille au soir, la diète était prolongée ensuite jusqu'à treize heures.

L'épreuve virulente a eu lieu pour l'un quinze jours, pour l'autre dix-huit jours après la dernière prise de vaccin par l'ingestion de 10 et 20 milliards de bacilles dysentériques vivants. Les deux témoins ont été soumis à la même épreuve. Tous deux ont contracté une dysenterie typique (selles glaireuses, présence de sang, ténesme) avec présence du bacille de Shiga et qui a cédé rapidement au traitement par le sérum spécifique. Les deux vaccinés n'ont présenté au contraire aucun trouble digestif ou autre. Leur pouvoir agglutinant vis-à-vis du bacille dysentérique DS, qui était nul avant l'expérience et le jour de l'épreuve, est monté pour l'un d'eux à 10, cinq jours après celle-ci, à 20 au vingt et unième jour.

Cette expérience, réalisée dans les conditions que nous avions reconnues indispensables au succès, prouve de façon décisive que la voie digestive permet la vaccination de l'homme contre la dysenterie. Or cette voie est, nous l'avons montré, la seule aussi qui soit recommandable dans notre espèce.

CONCLUSIONS

Ces expériences ont une portée à la fois particulière et générale. Elles montrent qu'on peut aisément et sans inconvénient vacciner l'homme par voie digestive contre la fièvre méditerranéenne et contre la dysenterie bacillaire (à bacille de Shiga). Elles ne laissent guère de doutes sur l'efficacité de la même voie pour les vaccinations contre la fièvre typhoïde, les paratyphoïdes, le choléra, maladies à porte d'entrée digestive et vis-à-vis desquelles l'expérimentation sur l'homme est impossible.

1° Au point de vue de la fièvre méditerranéenne.

Nous avons successivement démontré qu'il était facile d'immuniser l'homme au moyen d'un vaccin constitué par des cultures mortes, qu'on l'introduise par voie sous-cutanée ou par voie digestive.

2° Au point de vue de la dysenterie.

Nous avons d'abord mis en évidence l'intérêt considérable des expériences de Besredka sur le lapin. Concluantes pour cet

animal et dans les conditions où ce savant opérait, elles ne nous ont point satisfait entièrement. Nous ne croyons pas qu'on puisse identifier absolument la maladie artificielle du lapin (préparation par la bile, inoculation intraveineuse des cultures) et celle de l'homme.

L'expérimentation sur notre espèce nous a paru seule susceptible de trancher entièrement la question (qui, en dehors du cas de la dysenterie, a une portée très générale). Nous avons montré les inconvénients des voies sous-cutanée ou intramusculaire et de la voie intraveineuse chez l'homme. Les premières déterminent une réaction violente, qui les rend très pénibles et, en somme, sauf en cas de nécessité, d'une application impossible. Nous avons cependant eu recours en 1916 sur 1.018 sujets à ce procédé de vaccination, le seul que nous connaissions alors, pour la prévention de la dysenterie dans une région contaminée endémiquement. La réaction locale consécutive à l'inoculation vaccinale ne se montrant qu'après une incubation de quarante-huit heures environ, nous avons indiqué un moyen de la réduire; il consiste dans l'injection d'une faible dose de sérum antidysentérique au moment où l'œdème apparaît.

La voie intraveineuse met bien le sujet à l'abri de la réaction locale ; il lui substitue une réaction générale constante et vive, avec élévation temporaire de la température vers 40° ou au-dessus. L'importance de la réaction varie suivant les quantités de corps microbiens introduites ; des doses de 75 millions seraient possibles, des doses plus fortes sont nettement contre-indiquées. La réaction est fonction de la toxicité spécifique du microbe ; les bacilles dysentériques morts la provoquent presque au même degré que les microbes vivants. Les essais de réduction de la toxicité du bacille dysentérique sont illusoires. Atténuer cette toxicité serait diminuer en même temps le pouvoir vaccinant . Il ne semble pas qu'il y ait de races dysentériques légitimes bien différentes les unes des autres au point de vue toxique. La voie veineuse doit être en somme proscrite comme procédé de vaccination.

Pour étudier la valeur de la vaccination antidysentérique chez l'homme, la première condition est de savoir réaliser la dysenterie chez les sujets neufs. Un témoin, qui s'infecte, est

nécessaire à opposer aux vaccinés, qui résistent. Or, il n'est pas aisé de reproduire la dysenterie dans notre espèce. L'emploi de la voie veineuse n'y réussit pas. La voie digestive a généralement échoué entre nos mains, tant que nous n'avons pas connu les conditions qui s'opposent à la réussite et conséquemment déterminé celles qui y sont nécessaires.

La *virulence* du microbe y joue un rôle important. Cette virulence, sans doute variable suivant les races, se perd généralement vite chez les microbes entretenus dans les laboratoires, la toxicité demeurant la même, puisqu'elle est propriété intégrante des substances constitutives du microbe. La virulence est au contraire une propriété acquise et temporaire. Nous avons eu entre nos mains des bacilles dysentériques encore virulents (pour les sujets sensibles) deux ans après l'isolement. Il est bon de n'employer dans les essais d'infection que des microbes récemment isolés.

Le *facteur race humaine*, que nous ne soupçonnions pas d'abord particulièrement, joue un rôle primordial. Les indigènes de la Tunisie présentent d'ordinaire (trois fois sur quatre) une immunité totale vis-à-vis de l'ingestion de cultures dysentériques, même d'isolement récent, même administrées à doses massives, même si l'on prend soin de préparer le sujet par la méthode de Besredka (ingestion préalable de bile de bœuf). Cette résistance tient sans nul doute à l'absorption habituelle par les indigènes d'eaux polluées et qui contiennent le bacille dysentérique. Il se crée ainsi chez eux, précisément par voie digestive, une immunité contre la dysenterie, de même qu'il s'en crée chez eux aussi une autre par le même mécanisme contre la fièvre typhoïde, maladie vis-à-vis de laquelle tous les médecins africains ont remarqué la résistance de la population autochtone.

Les races européennes, qui échappent du fait de l'hygiène à ces contaminations vaccinantes, présentent au contraire une parfaite sensibilité au bacille dysentérique. Nous devions donc, pour obtenir le résultat que nous cherchions, opérer sur des sujets non indigènes.

Une expérience, réalisée dans ces conditions et avec une culture dysentérique d'isolement récent, nous a démontré qu'il était aisé de vacciner par voie digestive l'homme contre la

dysenterie bacillaire. Le vaccin, constitué par des cultures mortes, est supporté sans inconvénient ; son absorption ne donne pas lieu à une production notable d'agglutinines.

Il y aura, pour la mise au point nécessaire à l'application en grand de la méthode, une série de progrès à accomplir. Préoccupés d'une démonstration formelle et purement expérimentale, nous avons employé les vaccins à l'état liquide et à doses massives ; nous n'avons pas déterminé la dose suffisante sans doute infiniment plus faible. Nos sujets vaccinés ont été éprouvés après des délais très courts. Nous ignorons quelle aurait été la durée de l'immunité dans ces expériences. Il sera sans doute utile en pratique de faire absorber beaucoup de corps microbiens, de les faire absorber souvent et à jeun, sous une forme aussi qui leur conserve leurs propriétés immunisantes intactes. Les vaccinations par voie digestive devront procéder suivant la méthode naturelle, grâce à laquelle les races indigènes s'immunisent, c'est-à-dire par contacts répétés.

3° Au point de vue des autres maladies qui peuvent bénéficier de la méthode des vaccinations par voie digestive.

Les résultats tout pareils, que nous avons obtenus dans nos expériences sur deux maladies aussi différentes l'une de l'autre que la fièvre méditerranéenne et la dysenterie bacillaire, l'une à porte d'entrée quelconque et à évolution septicémique, l'autre purement locale et digestive, ces résultats favorables semblent bien indiquer que la méthode, qui permet de protéger l'homme contre elles, a une portée générale.

Nous croyons que cette méthode est applicable en particulier aux autres infections à porte d'entrée et à localisations digestives, telle que la fièvre typhoïde, les fièvres paratyphoïdes, le choléra. L'impossibilité, où nous nous trouvons d'expérimenter dans notre espèce sur des maladies aussi graves, ne laisse d'autre recours, pour établir la valeur du procédé, que d'en faire un emploi étendu.

(Institut Pasteur de Tunis.)

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR UNE MALADIE ÉRUPTIVE DE LA CHÈVRE OBSERVÉE EN GRÈCE

par Georges BLANC, C. MÉLANIDI, J. CAMINOPETROS.

(Institut Pasteur Hellénique.)

Nous avons observé en Grèce une maladie éruptive de la chèvre fréquente et bien connue des paysans qui l'attribuent à l'ingestion de certaines plantes (1). Cette maladie, que nous avons reproduite expérimentalement, est en réalité causée par un virus dont nous avons pu déterminer un certain nombre de caractères qui permettent de la classer dans les épithélioses du groupe vaccine-variole-clavelée.

La maladie naturelle.

A l'état aigu et dans la forme grave on note chez la chèvre, au pourtour de la bouche et du nez, une formation croûteuse, épaisse, noirâtre, suintante, accompagnée le plus souvent d'œdème des lèvres. Dans la bouche, sur les muqueuses buccale, gingivale, linguale, s'observent des papules rouges, ulcérées, recouvertes d'un enduit pultacé qui finit par envahir presque toute la muqueuse. L'haleine est fétide. Malgré les complications septiques qui accompagnent cette éruption le pronostic est bon. Après deux à trois semaines les croûtes se dessèchent et tombent, les papules s'effacent et la guérison s'établit.

Dans les formes bénignes, les plus fréquentes, surtout chez les jeunes animaux et qui passent souvent inaperçues, la

(1) Il est intéressant de noter que parmi les plantes que l'on nous a apportées et qui sont incriminées par les paysans, nous avons reconnu un *Hypericum*, le Hamra des Arabes, l'*Hypericum hirsutum*, connu par ses propriétés phototoxiques en Afrique du Nord et qui cause également en Grèce des accidents de même nature.

maladie se borne à quelques pustules de la région cutanéo-muqueuse des lèvres. Il s'agit en somme d'une stomatite pustuleuse accompagnée de péristomatite croûteuse, très voisine cliniquement de la stomatite pustuleuse (Horse pox) du cheval. Nous reviendrons sur ses rapports tant avec la vaccine qu'avec les autres virus de même ordre.

La maladie expérimentale.

Nous avons reproduit la maladie éruptive de la chèvre en utilisant comme virus une émulsion de croûtes broyées dans l'eau physiologique, ou le produit obtenu par curettage des papules de la bouche. On obtient aisément chez la chèvre les lésions typiques, péristomatite croûteuse et stomatite papuleuse, par scarification légère du museau ou de la muqueuse buccale et application sur les plaies, avec un tampon, du produit virulent. On peut également obtenir sur la peau des cuisses, du ventre ou des flancs, rasée et scarifiée, une éruption nette. Quelques jours après l'inoculation, trois à quatre, on note le long des lignes de scarification un érythème, puis bientôt une réaction inflammatoire, œdémateuse qui, vers le dixième jour, se présente sous la forme de pustules allongées, ombiliquées, légèrement suintantes, et qui se recouvrent petit à petit de croûtes d'abord jaunâtres, puis noirâtres. Si l'asepsie de la peau de l'animal n'est pas soigneusement faite, on peut observer également des vésico-pustules comparables à celles qui apparaissent chez le chien dans la maladie du jeune âge.

L'inoculation à la cornée et à la conjonctive donne, après une incubation courte, de douze heures en général, une violente conjonctivite accompagnée d'un larmoiement intense et d'une kératite diffuse totale. Si les scarifications de la cornée ont été un peu fortes, la kératite se complique d'hypopion. Tous ces caractères de la maladie expérimentale s'observent avec une intensité au moins égale chez le mouton. On peut même affirmer que le mouton, l'agneau de préférence, est un meilleur sujet d'expérience que le chevreau qui, très souvent, a fait naturellement une infection bénigne et se montre réfractaire à l'inoculation.

A l'exception du mouton les animaux de laboratoire se

montrent peu sensibles ou réfractaires. L'inoculation, même à doses massives, ne donne rien sur le chien, même très jeune; le cobaye est également réfractaire ainsi que le pigeon; le lapin ne réagit pas par inoculation cutanée, suivant la méthode Calmette et Guérin ou après scarification. L'œil, de façon inconstante, présente après scarification une kératite légère, qui guérit très rapidement et qui ne peut se reproduire en série. Le cheval, même inoculé sur l'œil, est réfractaire. Le singe (*Macacus rhesus*), après scarification de la peau de la cuisse, a présenté de très belles papules d'un rouge cuivre qui sont apparues après quatre à cinq jours et ont persisté une dizaine de jours; elles ont disparu après s'être recouvertes d'une légère desquamation, sans être nettement arrivées au stade de pustules et sans s'être recouvertes des épaisses croûtes caractéristiques que l'on note chez la chèvre et le mouton.

Le caractère histologique des lésions, sur lequel nous reviendrons ailleurs, ainsi que le passage positif au mouton montrent qu'il s'agit bien de l'éruption spécifique due au virus de la chèvre.

Nature du virus.

Le virus se conserve bien en glycérine, encore mieux desséché; en particulier les croûtes, même à la période de résolution des symptômes, se montrent très virulentes. Le virus est filtrant; après passage par bougie, sa virulence est encore très grande, ainsi qu'en témoigne l'expérience suivante :

Le 18 janvier le mouton 8 est inoculé sur les deux cuisses scarifiées avec du virus de chèvre filtré sur bougie L2. En même temps un tampon de coton stérile, trempé dans le filtrat, est passé fortement sur la muqueuse labiale. Le filtrat est ensemencé abondamment sur divers milieux de culture.

Dans les jours qui suivent le filtrat reste stérile. Le long des lignes de scarification apparaissent des papules bien isolées, très caractéristiques, tandis que, sur la muqueuse labiale et sur la muqueuse buccale, se développent des papules également typiques.

Rapports du virus avec la clavelée et la vaccine.

Une première atteinte du virus de la chèvre confère à cet animal ou au mouton une immunité qu'il est facile de mettre en évidence par l'expérience.

En voici un exemple :

Le 21 décembre un agneau est inoculé, sur les cuisses scarifiées, avec un virus chèvre passé par mouton, conservé en glycérine ; l'animal fait, après quelques jours, une très violente éruption, recouverte ensuite d'épaisses croûtes. Le 18 janvier, le même animal, complètement guéri, est réinoculé sur la cuisse gauche avec du virus frais prélevé la veille sur le museau d'un mouton. Aucune réaction ne suit cette inoculation, alors qu'un agneau témoin fait l'éruption classique.

Nous avons utilisé cette immunité conférée par une première inoculation pour différencier ce virus de ceux de la vaccine et de la clavelée. Nous donnerons ultérieurement le détail de nos expériences qu'il suffit de résumer ici :

1° Un mouton inoculé sur la peau avec du virus de chèvre ne présente aucune immunité contre le virus de la clavelée ou celui de la vaccine.

2° Un mouton inoculé sur la peau ou sous la peau, même à très fortes doses avec du claveau (nous avons dans un cas utilisé avec succès, pour cette expérience, un mouton qui avait reçu 103 grammes de pulpe claveleuse), ne présente aucune immunité contre l'inoculation du virus de la chèvre.

3° Un mouton inoculé sur la peau avec de la vaccine ne présente aucune immunité contre l'inoculation du virus de la chèvre (1).

En inoculant des moutons sur la conjonctive et la cornée, nous avons obtenu les mêmes résultats : soit une forte immunité spécifique et l'absence d'immunité croisée. De ces faits il ressort que l'affection éruptive de la chèvre est distincte de la vaccine et de la clavelée. Si elle se rapproche de la première par ses manifestations cliniques (stomatite pustuleuse), elle s'en écarte nettement, et par les réactions d'immunité, et par son action sur les animaux de laboratoire.

De la seconde, elle semble très voisine, étant comme elle étroitement adaptée aux espèces ovines ; elle s'en distingue cependant, et par les réactions d'immunité, et par son action sur les singes catarrhiniens.

Par contre, nous n'hésitons pas à identifier notre virus avec

(1) Outre la vaccine d'origine génisse, nous avons utilisé la vaccine isolée de la stomatite pustuleuse du cheval.

celui étudié par H. Zeller et observé dans les possessions allemandes du Sud-Ouest africain, sur des chèvres (1). Nous retrouvons les mêmes types cliniques et la même action pathogène sur les animaux domestiques et de laboratoire.

L'auteur allemand n'a pas fait d'expériences d'immunité croisée et n'a pas expérimenté sur les singes. Nous pensons aussi que la maladie de Zeller et la nôtre sont identiques à celle qu'Aynaud vient d'étudier récemment sous le nom de stomatite pustuleuse des ovins (2), mais cette supposition mérite d'être confirmée par l'expérimentation.

(1) H. Zeller, Ueber Pocken bei Ziegen Südwestafrikas. *Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamte*, octobre 1920.

(2) M. Aynaud, La Stomatite pustuleuse contagieuse des ovins. *C. R. de l'Académie des sciences*, novembre 1921.

ACTION DE L'AMINOPHÉNOLARSINATE DE SOUDE (189) SUR LES TRYPANOSOMIASES EXPÉRIMENTALES DU COBAYE

par A. NAVARRO MARTIN et G.-J. STÉFANOPOULO.

Dans une note antérieure l'un de nous a montré les résultats obtenus avec diverses préparations arsenicales à base d'arsenic pentavalent (acides arsiniques) sur les trypanosomiases expérimentales de la Souris (*Tryp. brucei* et *Tryp. rhodesiense*) (1). Le sel sodique de l'acide 3-amino-4-oxyphénylarsinique (189) s'est montré supérieur aux dérivés arsenicaux employés jusqu'ici tels que l'atoxyl, l'arsénophénylglycine, la « tryparsamide » (acide phényl-glycynamide-arsinate de soude) (2).

Poursuivant ces recherches, nous avons essayé de déterminer l'effet du 189 sur les infections expérimentales du Cobaye dues au *Tryp. brucei* et au *Tryp. gambiense*.

Toxicité.

L'aminophénolarsinate de soude peut être injecté sous la peau, en solution aqueuse, sans qu'il se produise aucun phénomène de réaction locale. La dose maxima tolérée par le cobaye est 0 gr. 25-0 gr. 30 par kilogramme de poids. A partir de cette dose les animaux meurent intoxiqués dans un délai de dix à quinze jours après un rapide amaigrissement. L'analyse histologique des viscères montre des lésions hémorragiques et dégénératives du foie, des poumons et du rein. Dans un cas, un Cobaye, ayant reçu 0 gr. 4 par kilogramme de poids, a pré-

(1) A. Navarro. *C. R. Soc. de Biol.*, 26 nov. 1921, **85**, p. 976.
(2) A. Navarro. Ces *Annales*, janvier 1922, **36**, p. 38.

senté le lendemain de l'injection, des phénomènes toxiques d'odre nerveux, caractérisés par une légère paralysie du train postérieur, des mouvements giratoires tout à fait identiques à ceux qu'on observe chez les Souris danseuses, et, de plus, du nystagmus horizontal et du tremblement de la tête ; la mort de l'animal survint quatre jours après l'injection.

Traitement de l'infection produite par le *Tryp. brucei.*

Nous avons employé dans nos essais une race, provenant du laboratoire de M. le professeur Mesnil, qui tue le Cobaye dans un délai de vingt à trente jours. L'injection du médicament a été faite, en général, entre le septième et le dixième jour après l'inoculation alors que les Trypanosomes existaient en quantité notable dans la circulation générale.

Nous avons employé des solutions aqueuses de 189 récemment préparées et nous les avons injectées sous la peau.

Le tableau I donne les résultats relatifs à l'application d'une seule dose du médicament.

Tableau I. — **Résultat du traitement du Nagana expérimental du Cobaye par une seule dose de 189.**

NOMBRE de Cobayes traités	DOSES par kilogramme	RÉSULTATS	
		Guéris	Non guéris
	gr.		
1.	0,03	0	1
2.	0,04	0	2
2.	0,05	1	1
3.	0,06	0	3
1.	0,075	1	0
2.	0,08	1	1
3.	0,10	3	0
1.	0,15	1	0
1.	0,20	1	0
1.	0,25	1	0
1.	0,30	»	Mort intoxiqué.

Ce tableau montre qu'à partir de 0 gr. 05 par kilogramme

on commence à noter quelques guérisons ; mais la stérilisation certaine s'observe quand on atteint la dose de 0 gr. 10. Le coefficient thérapeutique C/T (C = dose curative ; T = dose tolérée) est donc de 1/3, ce qui représente un coefficient chimiothérapique des plus favorables quand on considère la difficulté éprouvée jusqu'ici pour guérir, au moyen d'agents chimiques, le nagana expérimental du Cobaye. C'est ainsi qu'avec l'arsénophénylglycine ce n'est que dans des cas exceptionnels qu'on a pu observer la guérison, avec une dose très voisine de la dose tolérée, le coefficient C/T n'étant jamais supérieur à 1/2, même quand il était le plus favorable.

Quand on administre le 189 en quantité insuffisante le *Tryp. brucei* acquiert, chez le Cobaye, une certaine résistance à l'arsenic.

Dans le tableau II on trouvera quelques exemples des effets de traitement insuffisant ayant nécessité l'emploi de doses successives de médicament. Si on veut éviter définitivement le retour des rechutes on doit injecter une plus forte quantité de médicament qui, cependant, dans quelques cas, se montre alors inefficace.

TABLEAU II. — **Traitement des rechutes consécutives à des doses insuffisantes de 189.**

NUMÉROS des Cobayes	1re DOSE par kilogramme	RECHUTE après	2e DOSE par kilogramme	2e RECHUTE après	3e DOSE par kilogramme	3e RECHUTE après	4e DOSE par kilogramme	4e RECHUTE après	5e DOSE par kilogramme	RÉSULTATS
	gr.	jours	gr.	jours	gr.	jours	gr.	jours	gr.	
1	0,06	8	0,06	11	0,10	6	»	»	»	Mort avec Trypanosomes.
2	0,06	8	0,06	14	0,10	»	»	»	»	Guéri.
3	0,06	9	0,06	13	0,10	12	0,20	»	»	Guéri.
4	0,05	9	0,05	»	»	»	»	»	»	Guéri.
5	0,05	23	0,08	4	0,20	»	»	»	»	Guéri.
6	0,04	11	0,04	2	0,08	13	»	»	»	Mort avec Trypanosomes.
7	0,04	8	0,04	5	0,04	6	0.08	12	0,20	Mort avec Trypanosomes.

Traitement de l'infection produite chez le Cobaye par le *Tryp. gambiense*.

Nous avons utilisé pour nos expériences une race de *Tryp. gambiense* isolée, en janvier 1920, par l'un de nous du liquide céphalo-rachidien d'un malade de l'hôpital Pasteur. Cette race a été conservée jusqu'ici par passage sur le Cobaye qu'elle tue entre 30-40 jours, les chiffres extrêmes observés par nous ayant été : 23-55 jours.

L'injection du médicament a été faite douze à quinze jours après l'inoculation et en suivant la technique décrite antérieurement.

Le tableau III résume les résultats de ces expériences.

Tableau III. — **Résultats du traitement de l'infection du Cobaye par le *Trypanosoma gambiense*, à l'aide d'une seule dose de 189.**

NOMBRE de Cobayes traités	DOSE par kilogr.	GUÉRIS	NON GUÉRIS	MORTS ACCIDENTELLEMENT SANS TRYPANOSOMES (pneumonie, etc.)
	gr.			
1. . .	0,02	0	1	
1. . .	0,04	0	1	
3. . .	0,05	0	2	1, 55 jours après le traitement.
2. . .	0,06	1	0	1, 57 — — —
4. . .	0,07	3	0	1, 48 — — —
2. . .	0,08	2	0	

Dans le cas le plus favorable, 0 gr. 06 par kilogramme d'animal ont guéri définitivement un Cobaye, ce qui donne un coefficient thérapeutique de 1/5. Avec des doses de 0,07-0,08 la stérilisation a toujours lieu, le rapport C/T est donc de 1/3,5. Comme on le voit le coefficient thérapeutique est très voisin de celui qu'on observe dans le traitement du nagana expérimental du Cobaye. Les rechutes, dans le cas des infections à *Tryp. gambiense*, sont facilement influençables par une nouvelle administration de 189 (contrairement à ce qui se passe dans le cas du nagana). On peut s'en convaincre en consultant le tableau IV.

TABLEAU IV. — **Traitement des rechutes chez le Cobaye infecté par le *Trypanosoma gambiense*.**

NUMÉRO des cobayes	1re DOSE par kilogr.	RECHUTE après	2e DOSE par kilogr.	RÉSULTATS	DOSE TOTALE
	gr.	jours	gr.		gr.
1. . .	0,02	24	0,08	Mort sans Trypanosomes 7 jours après la 2e dose.	0,10
2. . .	0,04	13	0,06	Guéri.	0,10
3. . .	0,05	15	0,06	Guéri.	0,11
4. . .	0,05	39	0,08	Guéri.	0,13

CONCLUSIONS

L'aminophénolarsinate de soude (189) possède un énergique pouvoir curatif sur l'infection expérimentale du Cobaye par *Tryp. brucei* et par *Tryp. gambiense*.

Le coefficient chimiothérapique est beaucoup plus favorable que ceux qui ont été observés avec les dérivés arsenicaux connus jusqu'à présent.

Les solutions aqueuses à 10 p. 100 de ce produit sont parfaitement tolérées en injections sous-cutanées et ne provoquent aucune réaction locale.

(Laboratoires de M. Fourneau et de M. Pettit.)

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

36e ANNÉE SEPTEMBRE 1922 N° 9

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ESSAIS DE VACCINATION DU LAPIN ET DU COBAYE CONTRE L'INFECTION TUBERCULEUSE

par A. CALMETTE, L. NÈGRE et A. BOQUET.

Dans un précédent mémoire (1) nous avons exposé les résultats de nos expériences d'inoculation du bacille bilié de Calmette et Guérin aux petits animaux.

Ce bacille, d'*origine bovine très virulente*, cultivé en séries successives depuis quatorze ans sur milieu bilié, se montrait totalement privé de virulence, alors même que nous en injections 100 milligrammes en une seule fois dans le cœur du lapin et 50 milligrammes dans le cœur du cobaye. Ces injections *uniques* ne déterminaient qu'une tuméfaction ganglionnaire généralisée qui apparaissait deux semaines plus tard, persistait une dizaine de jours, puis s'effaçait sans laisser de traces. Les animaux sacrifiés après des délais variables jusqu'à trois mois ne présentaient aucune lésion tuberculeuse pulmonaire ou viscérale. Lorsqu'on les éprouvait au bout d'un mois par instillation oculaire avec une goutte d'émulsion concentrée de culture de bacille bovin virulent, ils accusaient une résistance manifeste. Alors que les témoins succombaient tous en deux à trois mois avec de gros ganglions du cou, pleins de pus caséeux, et des lésions généralisées à tous les organes viscé-

(1) Ces *Annales*, septembre 1921, **35**, p. 561.

raux, les cobayes préalablement traités par injection intracardiaque de bacilles biliés restaient en bon état de santé, et ceux qu'on sacrifiait après trois mois étaient trouvés seulement porteurs d'un ou deux ganglions cervicaux contenant, au lieu de pus, un liquide clair, séreux, dans une coque fibreuse. Ce liquide ne renfermait que quelques rares bacilles. L'infection tuberculeuse d'épreuve se montrait donc presque inoffensive pour les cobayes qui avaient reçu du bacille bilié dans la circulation sanguine.

Cette constatation permettait d'envisager la possibilité de conférer au cobaye, au moins pour quelques mois, une véritable immunité contre la tuberculose expérimentale. Et comme une telle immunité n'a encore jamais pu être obtenue par l'un quelconque des procédés de vaccination qu'on a tenté d'essayer jusqu'à présent, il paraissait indiqué de poursuivre nos expériences à l'effet de rechercher quel peut être le meilleur mode d'introduction du bacille bilié et quelle est la durée de sa persistance dans l'organisme.

Nous ne relaterons dans ce mémoire que les essais de vaccination effectués sur le *lapin* et sur le *cobaye* par *diverses voies autres que la voie intestinale.*

Nous ferons connaître ultérieurement les résultats de ceux que nous avons entrepris en vue d'immuniser les mêmes animaux, soit dans leur tout jeune âge, soit à l'âge adulte, par la *voie digestive.*

I. — Essais de vaccination du lapin.

Expérience. — Le 17 octobre 1921, onze lapins pesant chacun 2 kilogr. à 2 kilogr. 500 reçoivent dans la veine marginale, en une seule injection, les uns 20 milligr., les autres 30 milligr. de bacilles biliés (culture de 244e passage sur pomme de terre cuite dans la bile de bœuf, glycérinée à 5 p. 100) pesés à l'état frais et émulsionnés dans l'eau salée physiologique.

Trois de ces animaux (I, II et III) vaccinés avec 20 milligr. sont éprouvés, après trente-cinq jours, par inoculation intraveineuse de 0 milligr. 01 de tuberculose bovine virulente (origine Vallée, de notre laboratoire).

Deux autres (IV et V) de la même série, également vaccinés avec 20 milligr., sont éprouvés seulement après soixante-dix jours par la même dose de culture virulente.

Les six derniers lapins, tous vaccinés avec 30 milligr., sont divisés en deux lots : les trois premiers (V, VI et VII) sont éprouvés après trente-cinq jours ; les trois du second après soixante-dix jours, avec la même dose de la même

culture bovine virulente qui est simultanément inoculée à deux lapins témoins par voie veineuse.

Les témoins sont morts respectivement le cinquante-huitième et le soixante-quinzième jour, avec des lésions de tuberculose généralisée.

Le n° I, après cent soixante-dix-sept jours de survie, succombe brusquement le 20 mai 1922 de broncho-pneumonie à pasteurella. Aucun de ses organes ne présente la moindre lésion tuberculeuse.

Le n° II meurt, lui aussi, de pasteurellose après quatre-vingt-onze jours, sans aucune lésion bacillaire.

Le n° III est en parfait état de santé à la date du 20 juillet 1922.

Le n° IV, sacrifié après cent vingt-huit jours parce qu'il était atteint de paralysie du train postérieur, avait ses organes viscéraux sains, mais ses poumons contenaient quelques petits nodules fibreux bacillifères.

Le n° V est en bon état de santé le 1er août 1922.

Le n° VI survécut cent vingt-quatre jours. Il présentait quelques lésions de tuberculose aux poumons. Foie et rate indemnes. Il a succombé à la pasteurellose.

Le n° VII, mort après cent quatre-vingt-quinze jours, également de pasteurellose, avait lui aussi quelques petits tubercules récents sur les deux poumons. Rien au foie ni à la rate.

Le n° VIII est en excellent état de santé le 1er août 1922.

Le n° IX, mort après cent trente-six jours, n'a que quelques lésions discrètes de tuberculose pulmonaire; son foie et sa rate sont indemnes.

Le n° X, après avoir donné une portée de cinq petits bien portants, le 6 juin, succombe le 21 juillet à une infection pseudo-pneumococcique (maladie du nez). Ses organes splanchniques sont indemnes de toute lésion tuberculeuse. Ses poumons contiennent quelques nodules dans lesquels on trouve de rares bacilles.

Le n° XI reste en très bonne santé le 1er août 1922, soit plus de sept mois après l'épreuve virulente.

Il est donc évident que l'inoculation intraveineuse de 20 milligrammes et, mieux encore, de 30 milligrammes de bacilles biliés protège le lapin contre une infection tuberculeuse mortelle en cinquante à soixante-quinze jours pour les témoins. Toutefois, cette protection ne s'exerce efficacement que chez les animaux sains. Elle disparaît chez les lapins touchés par l'épizootie de pasteurellose dont nous avons gravement souffert dans nos cages de laboratoire.

D'autres expériences, effectuées dans les mêmes conditions, nous ont permis de constater que les bacilles biliés injectés dans la circulation sanguine se retrouvent plus ou moins nombreux dans tous les organes viscéraux, surtout dans la rate, le foie et les poumons, pendant dix à vingt jours après l'inoculation. Ils sont moins abondants dans la moelle osseuse et les ganglions lymphatiques. Nous n'avons pas pu les déceler dans le rein.

A partir du vingtième jour on ne les trouve plus dans le foie ni dans la moelle osseuse. Ils se raréfient peu à peu dans les autres organes jusqu'à la fin du deuxième mois. Après ce délai, il devient impossible de les découvrir dans les frottis. Mais l'épreuve tuberculinique reste encore positive à la fin du quatrième mois.

Nous avons cherché à suivre la production des anticorps dans le sang d'un lapin, inoculé le 20 janvier 1922 avec 50 milligrammes de bacilles biliés dans la veine marginale de l'oreille. Voici les résultats que nous avons obtenus :

Le 2 février, soit après 13 jours, le sérum de ce lapin contenait, par centimètre cube			5	unités d'anticorps.
Le 13 février,	soit après	24 jours	200	—
Le 1er mars,	—	39 —	300	—
Le 15 mars,	—	54 —	100	—
Le 6 avril,	—	76 —	20	—
Le 25 avril,	—	95 —	0	—

La proportion d'anticorps s'accroît donc pendant environ trois mois après l'injection massive de bacilles biliés, puis elle décroît rapidement. Il ne semble cependant pas que ces variations quantitatives correspondent à une diminution de la résistance vis-à-vis de l'épreuve virulente, car les lapins se comportent de la même manière si l'épreuve est faite seulement trois mois, au lieu d'un mois après l'injection vaccinale.

La disparition des anticorps n'indique pas non plus que tous les bacilles biliés ont été résorbés ou éliminés par les voies naturelles d'excrétion (foie et intestin principalement), car si l'on pratique une injection intraveineuse de 0 c. c. 04 de tuberculine brute dans les veines du lapin, alors que la réaction de fixation est devenue négative, l'animal présente l'hyperthermie caractéristique et, les jours suivants, son sérum renferme de nouveau, et cela pendant près d'un mois, jusqu'à cent unités d'anticorps.

Ceux-ci disparaissent ensuite graduellement.

Dans nos expériences, l'injection intraveineuse de 20 à 30 milligrammes de bacilles biliés s'est montrée seule capable de conférer au lapin une résistance manifeste à l'infection virulente d'épreuve réalisée par voie intraveineuse avec la dose énorme de 0 milligr. 01 de bacilles bovins.

Les inoculations sous-cutanées de 2 milligrammes de ces mêmes bacilles biliés, répétées jusqu'à dix fois, tous les deux jours, ne parvenaient pas à produire le même résultat.

II. — Essais de vaccination du cobaye.

Nous avons éprouvé de grandes difficultés à conserver pendant un temps suffisamment long les nombreux cobayes sur lesquels devaient porter nos expériences. Beaucoup d'entre eux, malgré toutes les précautions prises, se sont trouvés contaminés dans les parcs par de la tuberculose zoogléique de Malassez et Vignal. D'autres ont succombé au cours du premier mois après l'inoculation vaccinale à une épizootie de pasteurellose, sans avoir subi l'infection virulente d'épreuve. Toutefois, *181 cobayes* du poids moyen de 350 à 400 grammes, qui ont tous, sauf les témoins, préventivement reçu des doses variables de bacilles biliés, ont pu être utilisés.

Ils ont été répartis en six lots :

1° Injectés par voie intracardiaque		25	cobayes.
2° —	— et sous-cutanée	25	—
3° —	— et intrapéritonéale	20	—
4° —	intrapéritonéale	11	—
5° —	sous-cutanée	68	—
6° Infection par instillation oculaire		5	—

27 cobayes ont été utilisés comme témoins.

Chacun de ces lots a été divisé pour que les cobayes subissent à des temps variables l'infection d'épreuve.

Celle-ci a été réalisée le plus souvent par la méthode d'instillation oculaire dont les résultats sont d'une remarquable constance et qui correspond le mieux aux conditions de l'infection naturelle. Le dépôt sur la conjonctive d'une goutte d'émulsion de tuberculose bovine virulente, titrée à raison de 10 milligrammes par centimètre cube, ne produit aucune lésion locale et détermine, avec une régularité parfaite, une infection tuberculeuse progressive qui débute par les ganglions sous-maxillaires et cervicaux, s'étend aux organes thoraciques et abdominaux et entraîne la mort dans un délai de cinquante à soixante-quinze jours.

Exceptionnellement, pour quelques cobayes, nous avons

injecté les bacilles d'épreuve sous la peau de la cuisse à la dose de 0 milligr.·01.

Nous résumons ci-après les indications qui se dégagent de tous ces essais :

La voie *intracardiaque* est la seule qui, jusqu'à présent, nous ait fourni des résultats nettement favorables. La dose optimum de bacilles biliés est de 2 à 5 milligrammes en injection *unique*. 1 milligramme est insuffisant.

L'épreuve d'infection virulente par instillation oculaire, faite après cinquante-quatre jours, n'a produit qu'uue infection restée localisée pendant trois à cinq mois dans les premiers groupes ganglionnaires. Après ce délai, l'évolution de la tuberculose se poursuit et la protection conférée par les bacilles biliés cesse. Pourtant, sur 21 cobayes ainsi vaccinés, nous n'avons observé qu'une seule tuberculose généralisée six mois et demi après l'épreuve.

La répétition des injections intracardiaques, à trois ou quatre semaines d'intervalle, est mal supportée; elle provoque fréquemment la mort des cobayes, soit immédiatement, soit dans les quarante-huit heures. Ceux qui ont résisté ont fait, après l'épreuve virulente, une adénite locale qui a persisté pendant quatre mois sans que l'infection s'étende aux autres organes.

Nous n'avons trouvé aucun avantage à associer à l'injection intracardiaque initiale une ou plusieurs injections successives sous-cutanées ou intrapéritonéales de bacilles biliés, aux doses de 1 à 2 milligrammes.

Les injections intrapéritonéales se sont montrées inefficaces. Il en est de même de la voie sous-cutanée, par injection unique de 5 ou 10 milligrammes, ou par doses de 2 milligrammes répétées deux ou trois fois.

Par contre, les injections répétées *dix fois tous les deux jours*, à des doses de 2 milligrammes, fournissent des résultats intéressants. Les cobayes ainsi traités et éprouvés par instillation oculaire, de trente-cinq à quarante-huit jours après la dernière injection vaccinale, n'ont présenté qu'une adénite cervicale, sans que l'infection tuberculeuse s'étendît aux autres organes avant la fin du quatrième mois après l'épreuve. Au niveau de chaque inoculation de bacille bilié il se formait de petits abcès froids dans le pus desquels on pouvait retrouver des bacilles

granuleux, complètement dépourvus de virulence pour les animaux neufs.

Les quelques essais de vaccination locale par instillations oculaires, répétées huit fois de deux en deux heures, de 0 milligr. 5 de bacilles biliés pour chaque dose, n'ont fourni que des insuccès. Tous nos animaux ont succombé à l'épreuve d'infection virulente, faite également par instillation oculaire, dans les mêmes délais que les témoins. Pourtant nous avons constaté que les bacilles biliés étaient très bien absorbés, car nous pouvions les retrouver encore dans les ganglions cervicaux trois et quatre semaines après les instillations.

CONCLUSIONS

Les résultats expérimentaux qui précèdent permettent de conclure que nos bacilles biliés, avirulents et non tuberculigènes peuvent, lorsqu'ils sont introduits préventivement à doses convenables, dans la circulation sanguine du lapin et du cobaye, conférer à ces animaux une résistance manifeste, mais seulement *temporaire*, aux infections virulentes d'épreuve rapidement mortelles pour les témoins.

Cette immunité artificielle fléchit peu à peu. Elle paraît cesser, chez le lapin, à partir du sixième mois, et, chez le cobaye, aux environs du cinquième mois après l'inoculation vaccinale. Elle disparaît aussitôt que les bacilles biliés sont entièrement éliminés ou résorbés et que les animaux ont perdu l'aptitude à réagir à la tuberculine.

Il semble donc que, chez le lapin et le cobaye, l'immunité acquise à l'égard de l'infection bacillaire soit peu durable. On pourra peut-être la prolonger en renouvelant périodiquement l'imprégnation vaccinale des organes lymphatiques. D'autres expériences sont nécessaires pour élucider cette question.

L'ANAPHYLAXIE ET L'IMMUNITÉ

par S. METALNIKOV.

Malgré le grand nombre de travaux consacrés à la solution de la nature de l'anaphylaxie, ce problème est encore loin d'être résolu.

La plupart des savants travaillant dans ce domaine considèrent surtout dans l'anaphylaxie le choc causant une mort soudaine qui survient immédiatement après une seconde introduction d'un antigène dans le sang d'un animal. Considérant ce choc comme un des caractères les plus typiques de l'anaphylaxie, beaucoup d'auteurs cherchent surtout à élucider les causes mêmes et la nature de ce choc.

Cependant ce choc ne constitue aucunement le point essentiel de l'anaphylaxie pas plus que les symptômes qui d'ordinaire l'accompagnent. Le trait le plus caractéristique de l'anaphylaxie est l'hypersensibilité, qui se manifeste régulièrement après l'introduction d'un antigène même en dose minime. Il est caractéristique ensuite que cette hypersensibilité se produit non seulement vis-à-vis des substances nuisibles, mais même vis-à-vis des substances albuminoïdes paraissant les plus inoffensives, comme, par exemple, le blanc d'œuf, le lait ou le sérum. Un autre point caractéristique à noter est que cette hypersensibilité survient après une période de dix à quatorze jours, c'est-à-dire à un moment où l'organisme acquiert l'immunité vis-à-vis de tel autre antigène.

Tous ces faits sont jusqu'à un certain point en contradiction avec nos idées sur l'immunité. On aurait pu, en effet, s'attendre à ce que l'immunisation, c'est-à-dire l'introduction dans un organisme de quelque agent virulent ou toxique, provoque une adaptation de la part de l'organisme, qui deviendrait moins sensible vis-à-vis de doses croissantes de ces agents virulents et toxiques.

La question se pose de savoir : comment concilier ces idées sur l'immunité avec l'anaphylaxie, c'est-à-dire avec ce fait que

l'organisme devient beaucoup plus sensible vis-à-vis d'un antigène après l'introduction de doses minimes de celles-ci?

Cette contradiction entre l'anaphylaxie et l'immunité constitue, à notre avis, le problème principal et fondamental dont la solution au moyen de recherches expérimentales est à l'ordre du jour.

Durant les dix dernières années, de nombreux travaux et traités entiers consacrés aux différentes questions ayant rapport à l'anaphylaxie ont été publiés. Les divers phénomènes de l'anaphylaxie furent reproduits et étudiés non seulement sur le lapin et le cobaye, mais aussi sur beaucoup d'autres animaux. Dernièrement les phénomènes de l'anaphylaxie ont été décrits par A. Lumière et H. Couturier (1) qui les constatèrent même chez les plantes, c'est-à-dire dans des organismes dépourvus de sang et de nerfs. Les mêmes symptômes d'hypersensibilité peuvent être observés sur certains microbes, comme le prouvent les travaux de Ch. Richet, Bochrach et Cardot (2). Tout ceci montre que l'anaphylaxie est un phénomène très répandu dans la nature, et qui présente une importance considérable au point de vue de la biologie générale.

C'est pourquoi il est nécessaire, pour comprendre et mettre à jour le problème de l'anaphylaxie, de diriger l'étude non seulement sur les animaux supérieurs avec leur système de circulation complexe et leurs organes si divers, mais aussi sur les invertébrés et les plantes avec leur organisation plus simple. Aussi est-il nécessaire de baser le problème de l'anaphylaxie sur un fondement d'ordre biologique général.

Les susdites considérations m'ont amené à entreprendre une série d'expériences sur différents animaux invertébrés.

Mes expériences ont porté en première ligne sur la chenille de la mite des abeilles (*Galleria melonella*).

De petites doses de sérum de cheval dilué furent introduites dans la cavité cœlomique de jeunes chenilles de *Galleria melonella*. Après douze à quatorze jours ces mêmes chenilles reçurent l'injection de sérum de cheval en doses et concentration variées. Je ne pus cependant constater aucun symptôme

(1) *C. R. Acad. Sc.*, 1921, p. 1313.
(2) *C. R. Acad. Sc.*, 1921, pp. 512 et 1554.

d'hypersensibilité. Même en injectant des doses énormes de sérum de cheval dans la cavité cœlomique des chenilles, ces dernières ne manifestent aucun des symptômes de l'anaphylaxie. J'ai procédé à la même expérience en me servant d'autres sérums, toujours sans obtenir de résultats perceptibles. Cependant, étant complètement insensible vis-à-vis du sang d'autres animaux, les chenilles de la mite des abeilles manifestèrent une sensibilité extraordinaire vis-à-vis de leur propre sang. Il suffit, en effet, de prélever, au moyen d'un tube effilé, une petite goutte de sang à une de ces chenilles et d'injecter ensuite ce sang à cette même chenille ou à une autre de la même espèce, pour obtenir une sorte de choc anaphylactique. L'animal manifeste une forte excitation, se meut dans tous les sens, son corps se contracte convulsivement, l'extrémité postérieure du corps est relevée; au bout de deux à trois minutes l'animal tombe sur le côté ou se renverse sur le dos et meurt, si la dose du sang injecté est assez grande, et le sang a subi une oxydation considérable. Plus le sang de la chenille reste exposé à l'action de l'air, plus il devient toxique. Par contre, si la dose a été faible et le sang n'a pas été suffisamment oxydé, les chenilles se réveillent après une à deux heures d'état comateux et se remettent complètement. Ces phénomènes rappellent par leur aspect extérieur le choc anaphylactique, mais il est clair qu'ils n'ont rien de commun avec ce dernier, surtout vu l'absence d'une immunisation préalable, c'est-à-dire d'une injection préalable d'antigène.

Des expériences ultérieures ont démontré que la mort soudaine des chenilles serait due probablement à l'action coagulatrice du sang oxydé, action qui produit la formation de coagulums entravant la circulation du sang (1).

Des expériences analogues ont été faites avec une autre chenille (*Cnethocampa pityocampa*). Là les symptômes de choc après injection du sang de l'animal se produisent d'une façon encore plus accentuée que chez la *Galleria melonella*.

Toutefois j'ai pu observer, chez cette dernière également, les phénomènes typiques de supersensibilité et d'anaphylaxie.

(1) Le sang des chenilles ne coagule qu'à la surface étant mis en contact avec l'oxygène de l'air.

C'est en immunisant les chenilles contre des vibrions de choléra très peu virulents que j'ai obtenu pour la première fois ces phénomènes. Comme j'ai eu l'occasion de le signaler dans un article précédent, les chenilles se laissent très facilement et rapidement immuniser contre le choléra. Après quelques heures, elles supportent facilement les doses minimales mortelles. Mais, tout en supportant facilement les doses minimales mortelles, elles deviennent beaucoup plus sensibles vis-à-vis des fortes doses, en comparaison avec les chenilles normales.

Voici quelques expériences :

Expérience 436. — On coupe une patte à la chenille de *Cnethocampa pityocampa*. En la pressant légèrement, on obtient plusieurs gouttes de sang, qu'on ramasse dans un tube effilé. Deux minutes après on injecte le sang à la même chenille ou à une autre. (Chaque chenille reçoit de 1/10 à 1/20 de centimètre cube du sang.) Aussitôt après l'injection les chenilles manifestent une forte excitation, se contractent convulsivement et meurent en quelques minutes.

Le même sang injecté aux chenilles de *Galleria mellonella* ne provoque aucun phénomène morbide chez ces derniers.

Expérience 437. — Par la méthode analogue on prélève plusieurs gouttes de sang chez les chenilles du *Galleria mellonella*. On laisse ce sang dans un verre à montre 3-5 minutes en contact avec l'oxygène de l'air. Ce sang oxygéné est injecté aux 5 chenilles de *Galleria mellonella* ; 2-3 minutes après l'injection, le choc typique et la mort de 3 chenilles Les deux autres se réveillent après 1-2 heures d'état comateux et se remettent complètement.

Le même sang injecté aux 5 chenilles de *Cnethocampa pityocampa* provoque un choc typique et la mort de toutes les chenilles injectées.

Expérience 339. — 10 chenilles reçurent dans la cavité générale 1/80 de centimètre cube des vibrions cholériques chauffés à 58°.

I. — Le lendemain 5 chenilles immunisées sont injectées par une dose minima mortelle de vibrions vivants. Après 24-48 heures toutes les chenilles sont bien portantes et vivantes.

5 chenilles normales de contrôle injectées par la même dose de vibrions vivants sont mortes en 15-24 heures.

II. — 5 autres chenilles immunisées sont injectées par une dose très forte des vibrions vivants (1/40 de centimètre cube d'une émulsion épaisse de vibrion cholérique de vingt-quatre heures sur gélose).

10-15 minutes après l'injection toutes les chenilles sont très malades ; 2-3 heures après, elles meurent. 5 chenilles normales de contrôle sont injectées par la même dose des vibrions vivants. 2-3 heures après l'injection elles sont encore bien portantes et vivantes. Elles ne meurent que 8-10 heures après l'injection.

Expérience 400. — 4 chenilles reçurent deux fois une faible dose de vibrions cholériques chauffés à 58°.

Cinq jours après les mêmes chenilles sont injectées par une dose très forte de vibrions vivants. 2-3 minutes après l'injection 3 chenilles meurent. La quatrième chenille meurt une heure après; 5 chenilles normales de contrôle, injectées par la même dose, meurent en 6-10 heures.

Expérience 402. — 5 chenilles reçurent deux fois une faible dose de vibrions cholériques chauffés à 58°.

Deux jours après les mêmes chenilles sont injectées par une dose très forte de vibrions cholériques. 2-3 minutes après l'injection 2 chenilles meurent subitement. Les trois autres meurent en 1-2 heures après l'injection. 5 chenilles de contrôle meurent en 6-12 heures.

Nous avons souvent répété ces expériences. Dans tous les cas, les chenilles immunisées qui supportaient très bien des doses sûrement mortelles de choléra virulent étaient plus sensibles que les chenilles normales, non immunisées aux doses fortes du même virus.

Nous avons à plusieurs reprises observé un phénomène très curieux qui ressemblait beaucoup au choc anaphylactique des animaux supérieurs. Les chenilles immunisées, injectées avec une forte dose d'une émulsion de vibrions cholériques, mouraient en 2-3 minutes (expériences 400 et 402). Malheureusement cette expérience ne réussit pas toujours pour des raisons que nous n'avons pas encore pu saisir. Les chenilles immunisées sont très bien préservées contre les petites doses de virus qui peuvent pénétrer dans le corps pendant l'infection naturelle. Mais cette immunité ne les préserve pas contre l'introduction brusque d'une grande quantité de vibrions dans la cavité générale. Au contraire, ces mêmes forces, qui lui assurent l'immunité dans la lutte contre les microbes, provoquent la mort très rapide de la chenille (1).

Ainsi selon la valeur de la dose de microbes nous obtenons chez le même animal, ou les phénomènes de l'immunité (doses faibles) ou ceux de l'anaphylaxie (doses fortes).

Nous trouvons des phénomènes analogues chez les animaux supérieurs.

Ce fait est bien connu que les cobayes se laissent facilement immuniser contre le choléra au moyen d'injections sous-cutanées du vaccin.

(1) *C. R. Acad. Sc.*, 1921.

Si on injecte à un cobaye immunisé une dose faible de vibrions cholériques, il la supporte très bien. Au contraire, ce même cobaye, injecté avec une forte dose dans les veines ou dans le péritoine, meurt très vite, souvent subitement, tandis que le cobaye normal, non immunisé, injecté par la même dose, n'en meurt qu'après une assez longue période.

Delanoé a étudié l'anaphylaxie typhique, et il a constaté qu'elle coïncide avec l'immunité. « Suivant la dose de l'injection déchaînante on observe tantôt de l'immunité (avec des doses faibles), tantôt de l'anaphylaxie (avec des doses fortes) » (1).

D'après Koch et Wassermann on observe le même phénomène dans la tuberculose.

Si l'on injecte des bacilles tuberculeux pour la seconde fois, sous la peau, ils donnent une réaction beaucoup plus rapide et moins intense qui ne produit pas de chancre et se guérit assez vite. On a pu démontrer que tout dépend de la quantité des doses injectées. Si on dépasse ces doses, et surtout si les bacilles tuberculeux sont injectés dans les veines ou dans le péritoine, ils provoquent une mort très rapide, tandis que les cobayes normaux supportent très bien les mêmes doses (2).

J'ai fait des expériences analogues avec les bacilles tuberculeux pisciaires. Les cobayes normaux supportent des doses énormes de ces bacilles, injectées dans le péritoine. Mais si un cobaye préalablement immunisé reçoit ensuite une dose forte de bacilles pisciaires dans le péritoine, il meurt très vite d'une inflammation générale du péritoine.

C'est donc un fait général : un animal immunisé, qui résiste très bien à des doses minimes mortelles d'un antigène quelconque, est beaucoup plus sensible à des doses fortes du même antigène que l'animal normal non immunisé.

Quelle est la cause de ce phénomène paradoxal ?

Nous supposons qu'elle est dans la sensibilité des cellules. L'introduction d'un antigène dans l'organisme a pour résultat une augmentation de la sensibilité des cellules avec ce même antigène. Les cellules deviennent hypersensibilisées, c'est-à-dire qu'elles commencent à réagir beaucoup plus énergi-

(1) Ch. Richet, p. 135.
(2) A. Wassermann, Immunität bei Tuberculose. *Zeit. f. Tub.*, 1921.

quement, plus fortement qu'auparavant envers ce même antigène.

C'est cette hypersensibilité des cellules qui est la cause de l'immunité (si la dose de l'antigène est faible) et de l'anaphylaxie (si la dose est forte). Injecté dans les veines ou des cavités du corps, l'antigène provoque les réactions brusques des cellules, des réactions inflammatoires, généralisées et des chocs. Pour prouver cette hypothèse, nous avons entrepris une série d'expériences sur la sensibilité et la chimiotaxie des cellules, surtout des cellules libres (phagocytes et leucocytes).

Plusieurs cobayes et lapins ont été injectés 2-3 fois par différents antigènes (blanc d'œuf, lait, microbes). Trois, quatre semaines après la dernière injection, nous avons introduit dans le péritoine ou sous la peau de l'animal immunisé plusieurs petits tubes capillaires remplis de l'antigène correspondant et, comme contrôle, des tubes avec des liquides neutres qui ne provoquent pas la chimiotaxie positive des leucocytes. Après 10-24 heures, on enlevait les tubes capillaires et on les examinait au microscope. Tandis que dans les tubes témoins remplis de liquides neutres, il y a très peu de leucocytes, les tubes remplis d'antigène sont ordinairement bourrés de leucocytes. L'antigène, dilué 10-100 fois par l'eau physiologique, attirait très bien les leucocytes des animaux immunisés.

Toutes ces expériences réussissent mieux si les tubes capillaires sont introduits, non sous la peau, comme on le faisait ordinairement, mais dans la cavité générale. Cette opération est beaucoup plus difficile, mais elle donne des résultats plus sûrs (1). Les expériences démontrent que chez un animal immunisé et anaphylactisé, les leucocytes et toutes les cellules mobiles sont toujours beaucoup plus sensibles vis-à-vis d'un antigène donné, que chez un animal normal non immunisé.

Le fait que l'immunisation provoque toujours une sensibili-

(1) Les tubes capillaires attachés sur des petites ficellettes étaient introduites dans la cavité générale par un trocart. 8-12 heures après, on les enlève facilement, sans ouvrir la cavité générale de l'animal.

Je donnerai les détails de cette méthode dans un mémoire sur la chimiotaxie des leucocytes.

sation des globules blancs est bien prouvé aussi par le phénomène de l'anaphylaxie locale (phénomène d'Arthus).

Le fait est bien connu. Si on introduit sous la peau d'un lapin un peu de blanc d'œuf ou d'un autre antigène, la réaction locale est très faible. La seconde injection produit une réaction plus forte. Les 3-5 injections attirent une énorme quantité des globules blancs et provoquent la formation des grandes suppurations et abcès.

Les expériences de Grineff (1) et Manoukhine (2) ont démontré qu'on peut empêcher l'anaphylaxie locale en injectant la veille dans la veine une petite dose de l'antigène correspondant. C'est le phénomène bien connu de l'antianaphylaxie, étudié, pour la première fois, par Besredka.

Nous avons fait les mêmes expériences avec des tubes capillaires. Un lapin sensibilisé reçoit dans la veine plusieurs petites doses de l'antigène. Le lendemain on introduit dans la cavité générale du même lapin les tubes capillaires remplis avec l'antigène dilué. 8-10 heures après on enlève les tubes qui contiennent très peu de leucocytes.

Tout prouve que les globules blancs ont perdu leur sensibilité envers l'antigène donné. Quelle en est la cause?

Pour comprendre ces résultats, il faut s'adresser aux travaux classiques de Pfeffer sur la chimiotaxie des anthérozoïdes des fougères. Ces anthérozoïdes ont une chimiotaxie positive très nette pour l'acide malique en solution faible. Si on remplit les tubes avec cet acide et si on les introduit dans l'émulsion des anthérozoïdes vivants, ces derniers, attirés par l'acide malique, entrent dans les tubes en grande quantité. Si, au contraire, comme l'a démontré Pfeffer, on ajoute une petite dose de l'acide dans l'émulsion qui renferme les anthérozoïdes, ceux-ci ne sont plus attirés par les faibles doses d'acide malique qui sont dans les tubes. C'est ainsi que les petites doses d'antigène injectées aux animaux anaphylactisés rendent les cellules moins sensibles aux doses qui les excitaient et les attiraient auparavant. La condition nécessaire pour que la sensibilité puisse se conserver et se manifester, est l'absence de l'anti-

(1) Grineff. *C. R. Soc. Biol.*, **72**, p. 979.
(2) Manoukhine et Potiralowsky. *C. R. Soc. Biol.*, **73**, p. 219.

gène dans les humeurs (1). Le contact prolongé des cellules avec l'antigène les accoutume, les rend moins sensibles à l'action de l'antigène et empêche la manifestation de l'anaphylaxie. On peut dire que toutes les causes qui diminuent la sensibilité de la cellule ont la faculté de produire l'antianaphylaxie.

Le travail bien connu de Roux et Besredka sur l'action des narcotiques chez les animaux anaphylactisés confirme pleinement notre hypothèse.

Les narcotiques et différents poisons du système nerveux, qui diminuent la sensibilité des cellules, suppriment les phénomènes de l'anaphylaxie. D'après l'expérience mémorable de Roux et Besredka, l'éther, le chloral, etc., sont des antianaphylactiques.

Ils n'empêchent l'anaphylaxie qu'en paralysant les réactions des cellules. Mais ils empêchent aussi l'immunité, car ils diminuent la sensibilité et la résistance des phagocytes et des autres cellules qui prennent part à la défense de l'organisme contre les microbes et leurs toxines.

C'est ainsi qu'on peut dire qu'à la base de tous les phénomènes d'immunité et d'anaphylaxie se trouve la sensibilité des cellules. C'est grâce à cette sensibilité que les phagocytes sont attirés vers les microbes, les englobent et les digèrent ; grâce à cette sensibilité que les cellules sécrètent les différentes substances nuisibles pour les microbes ; grâce à cette sensibilité que se produisent des inflammations et des phénomènes d'anaphylaxie locale et générale.

Le fait fondamental de l'anaphylaxie et de l'immunisation c'est que, par une substance albuminoïde hétérogène, les cellules de l'organisme se sont modifiées de telle sorte, qu'elles vont réagir alors avec plus d'intensité à l'injection de cet antigène. Les cellules sont devenues sensibles, c'est-à-dire immunisées ou anaphylactisées.

Une fois qu'elles sont sensibilisées, elles ont pour très longtemps (un an, deux ans, peut-être plus encore) acquis cette propriété (Charles Richet).

(1) Ces faits expliquent pourquoi la sensibilisation des animaux se produit plus vite si on injecte de petites doses, car les petites doses sont plus vite résorbées et éliminées.

Mais ce ne sont pas seulement les phagocytes qui sont devenus sensibles envers un antigène donné, mais toutes les cellules de l'organisme. Dans l'immunité comme dans l'anaphylaxie nous avons un complexe des réactions ou des réflexes des différentes cellules.

En étudiant le mécanisme de l'immunité chez les chenilles (1) nous avons pu observer que l'introduction d'un antigène quelconque provoque une réaction très énergique des phagocytes et de toutes les autres cellules : lymphocytes, protoleucocytes, cellules sphéruleuses, etc.

Chez une chenille immunisée, la phagocytose, la digestion des microbes englobés, la bactériolyse et toutes les autres réactions des cellules se passent beaucoup plus rapidement que chez une chenille normale.

Et cette accélération des réactions a lieu non seulement après l'injection des microbes et de leurs toxines, mais aussi des substances neutres, peu toxiques, comme carmin, blanc d'œuf, lait, etc. Chaque organisme vivant constitue un système harmonique qui se régularise par lui-même.

Infraction minime de ce système par l'introduction d'une substance étrangère, provoque une réaction de toutes parties du système, de toutes cellules de l'organisme.

« Or, quoiqu'il ne puisse être ici question que d'hypothèses, on peut admettre que la défense de l'organisme n'est pas seulement une défense des individus, mais encore une défense de l'espèce. Il ne s'agit pas seulement pour chaque individu de maintenir son existence, il faut encore que ces individus restent semblables à eux-mêmes.

« Si des substances hétérogènes pouvaient impunément pénétrer dans l'organisme et modifier ses propriétés chimiques fondamentales, pénétrant dans le protoplasme pour en altérer la nature, alors qu'est-ce qu'il en serait fait de la constitution somatique de chaque espèce animale, fait d'une lente et ancestrale acquisition.

« Il faut que l'être soit stable, et c'est pour le maintien de cette stabilité qu'il réagit avec tant d'énergie aux atteintes chimiques qui peuvent l'affecter. Pour l'état optimum du

(1) Ces *Annales*, 1922.

cobaye, il ne faut pas que les sérums de lapin et de chien puissent remplacer son sérum de cobaye, et alors il y a violente réforme réactionnelle, quand, pour la seconde fois, par une tentative d'effraction et une voie anormale son individualité chimique de cobaye est menacée. » (Ch. Richet.)

De ce point de vue on ne peut pas expliquer l'immunité et l'anaphylaxie par l'action séparée de telle ou telle substance, de telle ou telle cellule. L'immunité est le résultat des efforts combinés de toutes les cellules de l'organisme.

Les travaux remarquables de W. Schultz, Dale et autres sur les organes isolés le démontrent avec certitude.

W. Schultz (1) est le premier qui ait appliqué les méthodes des organes isolés pour l'étude de l'anaphylaxie. Il prenait des organes d'animaux immunisés et les plaçait suspendus dans du sérum artificiel. L'addition au bain de minimes quantités d'antigènes provoque une réaction très forte des organes sensibilisés, tandis que les organes des animaux normaux, non immunisés réagissent très peu, presque pas.

Dale (2) fit des recherches analogues sur l'utérus du cobaye entièrement isolé du corps.

L'utérus du sujet anaphylactisé, isolé et débarrassé de toute trace de sang ou de sérum, se contracte violemment au contact d'une faible quantité d'antigène. Tandis que l'utérus sensibilisé se contracte après l'addition au bain de 0,025 et même de 0,0025 cent. cubes d'antigène (sérum de cheval) l'utérus normal ne réagit pas même à 1 cent. cube de cet antigène.

Le muscle utérin provenant d'un animal immunisé vis-à-vis de plusieurs antigènes, irrigué successivement par chacun d'eux, donne lieu chaque fois à une contraction caractéristique.

Vu que la sensibilisation de l'utérus commence et se développe parallèlement avec l'apparition des caractères de l'anaphylaxie, Dale l'envisage comme un symptôme d'anaphylaxie locale et l'interprète comme l'expression d'une propriété musculaire qui manifeste son action en dehors de la collaboration du sang.

(1) W. Schultz. *Journ. Pharm. and Exp. Therap.*, 1910.
(2) Dale. *Journ. Pharm. and Exp. Ther. Ibid.*, 1912-1913.

Les mêmes expériences ont été faites par A. Cesaris Demel (1) et Launoy (2).

Ils ont étudié les réactions du cœur isolé du lapin ou du cobaye sensibilisé par le sérum de veau ou de cheval, le lait ou l'albumine d'œuf, quand il est irrigué au moyen du liquide de Locké, accompagné d'antigène. Le cœur de cobaye sensibilisé vis-à-vis du sérum de cheval s'affaiblit et ne bat plus qu'avec lenteur, quand on introduit dans ce liquide un peu de sérum de cheval.

En somme, le cœur serait sensibilisé comme le sont l'intestin et l'utérus et comme c'est le mésentère chez les grenouilles étudiées par Fröhlich. Et cette sensibilité est propre aux cellules et ne dépend pas des humeurs et du sang, comme l'ont bien démontré Coca, Fenyvessy, Freund et autres.

Coca prenait des animaux sensibilisés (activement et passivement) et remplaçait leur propre sang par le sang défibriné d'un animal normal. Ainsi il a réussi à éliminer l'action des humeurs et des anticorps. Cependant la sensibilité de cellules envers l'antigène donné se conservait complètement. Fenyvessy et Freund sont arrivés aux mêmes résultats en appliquant les mêmes méthodes. Quand l'animal est immunisé passivement, ses cellules fixent la sensibilisatrice et deviennent sensibilisées.

Le fait qu'il existe une période d'incubation dans l'anaphylaxie passive (4-6 heures) plaide en faveur de cette hypothèse.

CONCLUSION

Le fait fondamental que nous observons dans l'anaphylaxie et l'immunité est l'hypersensibilité des cellules. Les cellules de l'organisme injecté par une substance albuminoïde hétérogène ont été modifiées de telle sorte qu'elles vont réagir alors avec plus d'intensité à l'introduction de cet antigène.

On peut dire que, pendant l'immunisation, toutes les cellules se mobilisent contre les microbes ou l'antigène donné, comme

(1) A. Cesaris Demel. *Arch. Ital. de Biol.*, 1910.
(2) Launoy. Ces *Annales*, 1911.

si c'était un vrai ennemi. Si cet antigène ennemi réapparaît dans l'organisme, les phagocytes se précipitent avec une grande rapidité sur lui. Toutes les autres cellules réagissent aussi : les cellules phagocytaires fixes, les cellules des tissus conjonctifs, les vaisseaux, les nerfs, etc.

Il se produit une réaction inflammatoire, une suppuration, un abcès. Toutes ces réactions sont très utiles en elles-mêmes pour l'organisme, parce qu'elles empêchent la pénétration des microbes dans le sang et dans les cavités du corps. Plus les cellules sont sensibles, plus elles réagissent intensément pour la défense de l'organisme.

C'est un fait général dans le règne animal et végétal. Vaviloff, qui a fait un travail très intéressant sur l'immunité des plantes, écrit :

« Les cellules des plantes possèdent une sensibilité extrême envers les différents parasites; plus elle est marquée, plus se manifeste l'immunité de la plante. Souvent ces cellules sensibles se nécrosent très vite et sont rejetées au dehors (1). »

Dans les conditions normales le virus pénètre sous la peau ou sous la muqueuse en petite quantité et la réaction inflammatoire, qui se forme ici, protège très bien l'organisme. Tout autre est le résultat, si l'antigène est introduit directement dans les veines ou dans les cavités générales d'un animal immunisé, dont les cellules sont hypersensibilisées. Les réactions inflammatoires, qui sont utiles, quand elles occupent une superficie limitée, en se propageant dans les vaisseaux et les organes internes, peuvent provoquer des troubles et des chocs que nous observons ordinairement dans l'anaphylaxie.

On peut comparer tous ces phénomènes avec les brûlures. Quand la brûlure est petite, elle provoque des réactions inflammatoires qui sont douloureuses, mais pas dangereuses. Si, au contraire, la brûlure est forte et s'étend à une grande superficie, les réactions inflammatoires qu'elle provoque peuvent occasionner des troubles graves et des chocs morbides. Ainsi nous pouvons dire que l'anaphylaxie est le résultat des réactions rapides des cellules, sensibilisées par l'immunisation. Ces réactions se manifestent ou sous forme d'anaphylaxie locale,

(1) Vaviloff, Immunité des plantes. *Thèse russe*, 1921.

quand l'antigène est introduit sous la peau, ou sous forme d'anaphylaxie générale, quand l'antigène est injecté dans les vaisseaux et les cavités du corps.

De ce point de vue, il n'y a aucune contradiction entre l'anaphylaxie et l'immunité, car les deux phénomènes sont occasionnés par la même cause, qui est l'hypersensibilité des cellules.

(Laboratoire du professeur Mesnil à l'Institut Pasteur.)

ÉTUDES SUR LE STREPTOCOQUE GOURMEUX

(PREMIER MÉMOIRE)

par MM. BROCQ-ROUSSEU, FORGEOT et A. URBAIN.

Unicité du streptocoque gourmeux.

La solution du problème de l'unicité ou de la pluralité des streptocoques humains s'est posée depuis longtemps, car, ainsi que le dit Besredka, « de cette solution dépend l'orientation de la sérothérapie antistreptococcique » (1).

Les méthodes employées pour grouper les streptocoques humains ont été des plus variées : caractères morphologiques, origine, virulence, agglutination, action sur les sucres et différents milieux, fixation du complément, etc.

Ces méthodes ont permis de constituer des groupes qui ne concordent pas entre eux. On aboutit, comme le dit Burnet (2), « à un certain ordre ou rangement relatif, à tel ou tel caractère, non à une classification vraie ».

Le même problème s'est posé à nous, en ce qui concerne les streptocoques des animaux, et en particulier ceux du cheval.

Les recherches poursuivies avec les streptocoques des animaux n'ont pas l'ampleur de celles faites avec les streptocoques humains.

Nous avons analysé, au cours d'une étude d'ensemble (3), les différents travaux publiés sur ce sujet. Nous rappellerons seulement que dès 1895 Lignières a groupé un certain nombre de caractères biologiques qui lui semblaient suffisants pour différencier le streptocoque pyogène du streptocoque gourmeux. Il semble qu'il y ait surtout lieu de retenir les deux faits suivants : le streptocoque gourmeux est pathogène pour

(1) Besredka. *Bull. Inst. Pasteur*, 30 août 1904, p. 657.
(2) Burnet. *Bull. Inst. Pasteur*, 15 novembre 1918.
(3) Brocq-Rousseu, Forgeot et Urbain, Les streptocoques des animaux. *Revue de Pathol. comp.*, 20 mai 1921.

le poulain, alors que le streptocoque pyogène le laisse indemne; le sérum préparé avec le streptocoque pyogène est sans action sur le streptocoque gourmeux.

Marmorek avait constaté, en 1902, que l'ensemencement d'un filtrat de streptocoque pyogène avec le même streptocoque ou avec un streptocoque quelconque d'origine humaine ne donne pas de culture; tandis que l'ensemencement du même filtrat avec le streptocoque gourmeux donne une culture.

Nous n'avons donc pas, à l'heure actuelle, de signe certain pour différencier certains streptocoques.

Au cours des études que nous poursuivons sur les streptocoques des animaux, et en particulier sur celui de la gourme, nous avons été amenés à rechercher, en première ligne, un moyen de différenciation : nous avons repris l'idée émise par Besredka (1) sur la valeur de la fixation du complément comme moyen de classification des streptocoques, et nous avons utilisé aussi l'action de l'hémolysine spéciale, qu'il a appelée streptocolysine, sur divers globules.

A. — *Fixation du complément.*

Le problème à résoudre était le suivant : un streptocoque gourmeux correspond-il toujours à un anticorps spécifique? Cet anticorps n'est-il pas commun à ce streptocoque gourmeux, à d'autres streptocoques du cheval, aux différents streptocoques des autres animaux et de l'homme?

Nous avons utilisé, dans cette recherche, différentes souches de streptocoques que nous énumérerons plus loin, et aussi divers microbes à titre de contrôle.

Nous avons recherché, pour chacun d'eux, leur valeur antigène vis-à-vis d'un sérum très riche en anticorps, préparé à l'aide de streptocoques gourmeux tués par l'alcool-éther (2).

Comme antigène, nous avons pris, dans tous les cas, des streptocoques tués par l'alcool-éther, émulsionnés à raison de 1 centigramme pour 20 cent. cubes d'eau physiologique à 9 p. 1.000.

(1) Besredka. Ces *Annales*, 1904, p. 362. Médicaments microbiens, 1912, p. 280.
(2) Brocq-Rousseu, Injections au cheval de streptocoque équin, traité par l'alcool-éther. *C. R. Soc. de Biol.*, 1921, n° 9, p. 445.

L'émulsion, pour être très homogène, doit être faite de la façon suivante : on agite pendant quelques minutes le poids de microbes secs nécessaire, avec quelques centimètres cubes d'eau physiologique, dans un ballon en verre contenant des perles de verre de différentes grosseurs : on complète ensuite au volume voulu (1). On obtient ainsi une suspension microbienne d'aspect colloïdal.

Comme il faut environ 5 grammes de microbes frais pour avoir 1 gramme de microbes alcool-éther, l'émulsion utilisée est donc cinq fois plus riche en corps microbiens que l'antigène ordinairement employé, et qui est constitué par 1 centigramme de streptocoques pour 20 cent. cubes d'eau physiologique (2).

Toutes nos réactions de déviation, ainsi que les titrages, ont été faits suivant la technique de Calmette et Massol. Les résultats obtenus sont exprimés en unités d'alexine fixée, d'après le rapport $\frac{N}{V}$.

Examinons maintenant comment se comportent les différents streptocoques.

1° *Streptocoques équins de la gourme.*

	Origine			Unités d'anticorps.
1.	Dôle.	(abcès sous-glossiens et parotidiens).		1.500
2.	Orléans	—	—	—
3.	Segala II	—	—	—
4.	376.	—	—	—
5.	Carpano 50	—	—	—
6.	Bec Hellouin 402 . . .	—	—	—
7.	— 542 . . .	—	—	—
8.	— 480 . . .	—	—	—
9.	Bonnavois 692.	—	—	—
10.	— 634.	—	—	—
11.	— 705.	—	—	—
12.	— 734.	—	—	—
13.	— 714.	—	—	—
14.	Montfaucon Macon . .	—	—	—
15.	Sauteur Macon	—	—	—
16.	Macon 958	—	—	—
17.	Eclaireur 1er chasseurs.	—	—	—
18.	Neurasthénie 1er ch. .	—	—	—

(1) A. Urbain, Sensibilisatrice due à la bactéridie charbonneuse. *C. R. Soc. de Biol.*, 7 janvier 1922, p. 9.

(2) Nicolle, Frasey, Debains et Nicolas, Recherches sur la préparation des sérums antimicrobiens et antitoxiques chez le cheval. Ces *Annales*, mai 1920.

Origine.			Unités d'anticorps.
19. Anglars Juillac 1179 . .	(abcès sous-glossiens et parotidiens).		1.500
20. Bonnavois 671.	—	—	—
21. — 730.	—	—	1.200
22. Mignon	—	—	1.200
23. Ribaut Macon	—	—	30
24. Pleurésie (Passe-par-là).			1.500
25. Liquide céphalo-rachidien (Wilbert).			1.500
26. Abcès du garrot (cours de gourme).			1.200
27. Sinusite (Bouchy)			1.200

Tous ces streptocoques gourmeux, sauf l'un d'eux, fixent donc le complément avec un taux considérable.

2° *Streptocoques équins non gourmeux.*

Origine.	Unités d'anticorps.
1. 12e Dragons	0
2. 19e Dragons	0
3. Alep	0
4. 238	0

Ces souches ont été isolées de pus de lymphangites épizootiques.

3° *Streptocoques humains.*

Origine.	Unités d'anticorps.
1. Pneumonie (Zœller).	0
2. — (Chauffart)	0
3. Otite (Boulleau)	0
4. Crachats (Bezançon)	0
5. Urine —	0
6. Pleurésie —	0
7. Sein —	0
8. Liquide céphalo-rachidien	0
9. Erysipèle.	0

4° *Streptocoques d'autres animaux.*

1. Mammite de la vache (Urbain)	0
2. — (Chrétien)	0
3. Poule (Chrétien).	0
4. Veau I —	0
5. — II —	0
6. Porc —	0
7. Lapin (Truche)	0
8. Chien (Verge).	0
9. Rat (Urbain)	0

5° *Microbes divers.*

Origine.	Unités d'anticorps.
1. Staphylocoque blanc équin	0
2. — doré humain	0
3. Pneumocoque I	0
4. — II	0
5. — III	0
6. *B. subtilis*	0
7. Bactéridie charbonneuse sporulée	0
8. — — asporogène	0

De ces expériences il ressort très nettement que :

a) Tous les streptocoques gourmeux ont une valeur antigène très active pour la recherche des anticorps streptococciques des sérums antigourmeux ;

b) Tous les autres streptocoques humains ou animaux, de même que d'autres microbes, donnent une réaction de fixation négative, en présence des mêmes sérums.

En d'autres termes, la sensibilisatrice d'un sérum antistreptococcique gourmeux est spécifique ; elle ne correspond qu'au streptocoque de la gourme.

B. — ***Action de l'hémolysine.***

Nous confirmons, par ce procédé, les notions courantes de différenciation entre les streptocoques humains et les équins ; et nous y ajoutons une démonstration nouvelle, que le streptocoque gourmeux est différent de tous les autres streptocoques du cheval étudiés, et aussi des streptocoques isolés des différents animaux.

En cultivant le streptocoque humain dans un milieu renfermant du sérum de lapin, Besredka a obtenu une hémolysine à laquelle il a donné le nom de streptocolysine. Nous avons recherché l'action, sur divers globules, du filtrat d'une culture de streptocoque de la gourme, et nous l'avons comparée à celle des filtrats de cultures d'autres streptocoques équins, humains, et de divers animaux, faites dans les mêmes conditions.

Nous avons utilisé la méthode de Besredka, en la simplifiant. Au lieu de partir du sang du cœur d'un lapin tué par une injection virulente de streptocoque, nous avons ensemencé du

sérum de lapin préalablement chauffé trente minutes à 55°, avec une culture de streptocoque en bouillon sérum, âgée de vingt-quatre heures.

Après vingt-quatre heures, cette culture en sérum de lapin, est filtrée sur une bougie Chamberland n° 3. Ainsi que le recommande Besredka, pour faciliter la filtration, nous avons dilué la culture avec un égal volume d'eau physiologique à 7,5 p. 1.000.

On recherche ensuite le pouvoir hémolytique du filtrat en le faisant agir à la dose de 0 c. c. 1, 0 c. c. 2, 0 c. c. 3, 0 c. c. 4, sur 0 c. c. 5 d'une dilution de globules de mouton, de cheval et de cobaye, préalablement lavés et émulsionnés, à raison de 1 p. 20 dans de l'eau physiologique à 9 p. 1.000. On porte ensuite à l'étuve à 37°, jusqu'à l'apparition de l'hémolyse.

Ainsi qu'il est de règle, le bon fonctionnement des bougies a été contrôlé après chaque filtration, par un ensemencement du filtrat. Nous avons aussi examiné, dans les mêmes conditions d'expérience, du sérum normal de lapin chauffé trente minutes à 55°, et filtré; nous n'avons jamais trouvé, dans ce cas, d'hémolysine active pour les globules étudiés.

Le tableau suivant donne les résultats des recherches. L'hémolyse est indiquée par le signe +; l'absence d'hémolyse par le signe —. Il est bien entendu que, tout en accordant une valeur sérieuse à cette mise en évidence de l'hémolysine, nous faisons toutes les réserves que nous pensons devoir faire à toutes les méthodes basées sur les filtrations. Il faudrait, pour que ces expériences aient une valeur indiscutable, que toutes les conditions tenant à la composition des bougies et aux réactions des milieux filtrés soient connues d'une façon précise. Il n'en est malheureusement rien, et nous ne devons accorder à la méthode des filtrations qu'une valeur relative. Elle ne prend tout son intérêt que lorsque, comme ici, les termes de comparaison sont assez nombreux pour fournir une conclusion intéressante.

Les indications de ce tableau montrent donc :

a) Que tous les streptocoques équins gourmeux possèdent une même lysine active pour les globules de cheval. Son action est ordinairement rapide ; exceptionnellement, elle ne se manifeste qu'au bout de douze heures;

ORIGINE (abcès sous-glossiens ou parotidiens)	GLOBULES		
	Mouton	Cheval	Cobaye
1° Streptocoques gourmeux.			
1. Dole	+ en 30 min.	+ en 30 min	+ en 30 min.
2. Bec Hellouin 402	+ en 30 —	+ en 30 —	+ en 30 —
3. Sauteur	+ en 30 —	+ en 30 —	+ en 30 —
4. Mignon	+ en 30 —	+ en 30 —	+ en 30 —
5. Segala	+ en 60 —	+ en 30 —	+ en 60 —
6. Bec Hellouin 542	+ en 60 —	+ en 60 —	+ en 60 —
7. — 480	+ en 1 h. 30	+ en 1 h. 30	+ en 1 h. 30.
8. Bonnavois 634	— en 12 h.	+ en 12 h.	— en 12 h.
9. — 734	— en 12 h.	+ en 30 min.	+ en 60 min.
10. — 705	+ en 30 min.	+ en 30 —	+ en 30 —
11. — 730	+ en 45 —	+ en 30 —	+ en 45 —
12. — 714	+ en 45 —	+ en 30 —	+ en 45 —
13. — 692	+ en 30 —	+ en 30 —	+ en 30 —
14. Anglars Juillac 1254	+ en 30 —	+ en 30 —	+ en 30 —
15. — 1271	— en 12 h.	+ en 2 h.	— en 12 h.
16. Macon I	+ en 2 h.	+ en 60 min.	+ en 2 h.
17. Liquide céphalo-rachidien	+ en 60 min.	+ en 30 —	+ en 60 min.
18. Pleurésie	+ en 30 —	+ en 30 —	+ en 30 —
19. Abcès du garrot	— en 12 h.	+ en 60 —	— en 12 h.
2° Streptocoques équins non gourmeux.			
1. Alep	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
2. 12e Dragons	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
3. 19e Dragons	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
4. 238	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
3° Streptocoques d'autres animaux.			
1. Poule	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
2. Mammite (vache) I	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
3. — — II	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
4. Veau I	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
5. — II	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
6. Porc	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
7. Chien	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
4° Streptocoques humains.			
1. Otite	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
2. Pneumonie	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
3. Crachats	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
4. Urine	+ en 60 min.	+ en 30 min.	+ en 60 min.
5. Sein	— en 12 h.	- en 12 h.	— en 12 h.
6. Liquide céphalo-rachidien	- en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
7. Pleurésie	— en 12 h.	— en 12 h.	— en 12 h.
8. Erysipèle	— en 12 h.	+ en 60 min.	+ en 60 min.

b) Les streptocoques équins isolés des lymphangites, et les streptocoques des autres animaux, ne sécrètent pas d'hémolysine capable de dissoudre les globules de mouton, de cheval ou de cobaye;

c) Deux streptocoques humains sur les huit étudiés ont une hémolysine active, dans un cas pour les trois espèces de globules, dans l'autre pour deux espèces.

Conclusions.

1° En se servant, comme antigène, de streptocoques tués par l'alcool-éther, la réaction de fixation permet de différencier d'une façon très nette le streptocoque gourmeux de tous les autres streptocoques du cheval, de l'homme ou des différents animaux.

2° Le streptocoque gourmeux sécrète une hémolysine active pour les globules de cheval, et fréquemment pour ceux de mouton et de cobaye, tandis que les autres streptocoques équins et ceux des autres animaux n'ont pas d'hémolysine active pour les mêmes globules.

Par contre, les streptocoques humains possèdent parfois une hémolysine identique à celle du streptocoque gourmeux.

3° En utilisant le procédé de la réaction de fixation et la recherche de l'hémolysine, on peut différencier le streptocoque gourmeux de tous les autres streptocoques connus.

(Institut Pasteur et Laboratoire militaire de recherches vétérinaires.)

LES RÉACTIONS D'IMMUNITÉ VIS-A-VIS D'UNE NOUVELLE RACE ARTIFICIELLE DE *B. COLI*

par Paul FABRY,
Assistant de Bactériologie à l'Université de Liége.

La notion de race microbienne est, avant tout, basée sur les propriétés physiologiques. Dans ses *Etudes sur la bière*, Pasteur (1) écrivait. « Des formes semblables peuvent aussi cacher des différences profondes ». Plus loin, il fait remarquer que, dans une même espèce microbienne, existent des individus qui, cultivés isolément, développent des propriétés particulières distinctes de celles des autres individus de la même culture. Il y a là, ainsi que le disait Pasteur, un procédé pour créer des races distinctes. Ce procédé fut utilisé dans la suite pour isoler de nombreuses races de microbes. Depuis de Vries, bien des auteurs ont signalé des mutations microbiennes; à un moment donné on peut observer, souvent sans cause apparente, une modification de certaines colonies. Une propriété nouvelle apparaît ou une ancienne disparaît chez certains individus; ceux-ci, s'ils sont isolés, peuvent ou bien retourner au type primitif, ou bien persister comme race nouvelle. C'est ainsi que Massini (2) a observé, avec le *B. coli mutabile*, l'apparition de certaines colonies qui faisaient fermenter le lactose, et donnaient des colonies rouges en milieu Endo; cette propriété devint héréditaire et définitive. Il n'y a cependant pas dégénérescence dans ce cas, car la nouvelle race se multiplie vigoureusement sur tous les milieux. Le monde des microbes fourmille de ces êtres en voie de transformation. Une forme ou une propriété nouvelle, un état nouveau, apparaissent dans une culture pour une cause qu'il est très souvent impossible d'analyser. Dans un nouveau milieu de culture, certains individus se-

(1) Pasteur. *Etudes sur la bière*, p. 148.
(2) Massini. *Archiv für Hyg.*, **61**, f. 3, p. 250.

modifient, s'adaptent mieux que les autres à la nouvelle situation. Les moins bien adaptés se multiplient de moins en moins, et font place aux adaptés qui, mieux en rapport avec de nouvelles conditions d'existence, prolifèrent de plus en plus, et finissent par constituer uniformément la foule des êtres de la colonie. En résumé, il doit se passer, dans ces cas de mutations microbiennes, ce quelque chose que l'on appelle, depuis Lamarck, « l'hérédité possible des caractères acquis ».

Outre l'action de circonstances naturelles, très difficiles à analyser, qui sont des agents de modifications microbiennes, il est possible d'introduire artificiellement, dans le milieu défini et limité qu'est une culture, un agent modificateur dont l'action suffisamment prolongée pourra influencer définitivement la descendance des microbes mis en sa présence. Les antiseptiques, ajoutés à des cultures de microbes en quantités telles qu'ils ne tuent pas ceux-ci, sont des agents modificateurs souvent très efficaces de la physiologie microbienne. J'ai montré (1) que le phénol, ajouté à du bouillon de *B. typhosus*, rend ce dernier beaucoup plus agglutinable par un typhus-sérum. Etudiant de même l'action modificatrice du phénol ajouté, en quantités croissantes, à du bouillon où j'ensemençais du *B. coli communior* (2), j'ai constaté qu'au bout de quelques jours ces cultures ne donnaient plus d'indol. Après une trentaine de jours de passages en milieu phénolé, ce *B. coli* repiqué dans les milieux les plus variés, et exempts de phénol ou de tout autre modificateur, continue à ne plus produire d'indol. On sait par les travaux de nombreux auteurs que le *B. coli* est susceptible de se modifier assez facilement sous telle ou telle influence. L'influence de lactose sur la mise en évidence d'une race nouvelle a été bien montrée par Massini (3); l'action du vert malachite à 0,1 p. 100 sur le *B. coli* produit, d'après C. Revis (4), des modifications permanentes de ses propriétés biochimiques (absence de production de gaz en présence de sucres, etc.). L'action d'un antiseptique ou d'un corps chimique étranger au milieu peut donc ou bien modifier les propriétés

(1) *C. R. Soc. de Biol.*, 21 février 1920 et 25 mai 1921.

(2) Le *B. coli communior*, de Dunham, est une race de *B. coli* qui, à la différence du *B. coli communis*, fait fermenter la saccharose.

(3) *Loc. cit.*

(4) C. Revis. *Centr. f. Bakt.*, II, **31**, nos 1-4.

des microbes d'une culture, ou bien influencer défavorablement certains individus et permettre à d'autres, doués de propriétés différentes, de prendre le dessus, et de pulluler dans le milieu jusqu'à donner une culture pure.

A 10 cent. cubes de bouillon (Ph. 6,8) j'ajoute le premier jour 0 c. c. 1 de phénol à 5 p. 100, et j'ensemence le tube, avec une anse de platine, de *B. coli communior*. Ce bacille pousse très bien à cette concentration de phénol dans du bouillon, soit 0,05 p. 100. Le lendemain, j'ajoute à un autre tube, contenant 10 cent. cubes de bouillon, 0 c. c. 2 de phénol à 5 p. 100 et une anse de *B. coli* puisée dans le tube de la veille. J'arrive ainsi, en quelques jours, à accoutumer le *B. coli* à vivre dans 10 cent. cubes de bouillon additionné de 0 c. c. 4 de phénol à 5 p. 100, soit une concentration de 0,2 p. 100 de phénol pur. A ce moment le *B. coli*, ensemencé en eau peptone Dunham, continue à donner de l'indol [réaction d'Ehrlich positive] (1). Après une trentaine de jours, pendant lesquels le *B. coli* a été transplanté, chaque jour, dans un nouveau tube de bouillon additionné de 0,2 p. 100 de phénol, la propriété de former de l'indol disparaît ; elle peut reparaître après deux ou trois jours dans des milieux exempts de phénol; il faut alors reporter le bacille dans du bouillon phénolé à 0,2 p. 100, et après un certain nombre de jours de passages dans ce milieu, le *B. coli* reste modifié quant à la propriété de ne plus produire d'indol; c'est-à-dire qu'ensemencé en milieux sans phénol pendant une série indéfinie de repiquages, il donne en eau peptone Dunham une réaction d'Ehrlich négative. Le *B. coli*, ainsi modifié, fut successivement repiqué durant au moins seize mois dans l'eau peptone Dunham ; chaque jour il fut examiné au point de vue de sa production d'indol, et chaque fois la réaction d'Ehrlich fut trouvée négative. Comme contrôle un *B. coli* normal (de la même souche primitive) était traité de même et donnait chaque fois une réaction d'Ehrlich positive. Donc ce *B. coli* est resté modifié, sans influence toxique, depuis seize mois, étant chaque jour repiqué dans un milieu nutritif normal. Ce *B. coli* modifié conserve sa propriété nouvelle après passages sur gélose, même après plusieurs mois de

(1) Réactif d'Ehrlich : coloration rouge par le paradiméthylamidobenzaldéhyde.

repos à la température du laboratoire; en bouillon simple, lactosé, glucosé, etc., ou, comme je l'ai dit, en eau peptone Dunham, le *B. coli* modifié continue à ne plus produire d'indol. Il conserve, par ailleurs, toutes ses autres propriétés, fait fermenter les sucres, ne liquéfie pas la gélatine, etc.; examiné au microscope, il ne prend pas le Gram, et a la même forme et les mêmes colorations que le *B. coli* normal. Dans les cultures du début, celles où se trouve du phénol, on voit souvent des microbes plus petits et moins réguliers que dans les autres cultures. Ces différences de forme ne doivent, d'ailleurs, pas être nécessairement rattachées au fait du milieu phénolé, car divers auteurs ont décrit des variations de forme du *B. coli* en milieu normal, et l'on connaît le polymorphisme fréquent de ce microbe.

Il est souvent difficile, sinon impossible, *in vitro*, de remonter les races atténuées ou modifiées profondément ; il faut pour cela le concours d'un organisme animal, chez lequel on injecte le microbe modifié. L'exaltation de virulence qui suit cette injection, jointe à des conditions de nutrition favorables, peut rendre au microbe ses propriétés primitives et typiques. Or ici il n'en est pas ainsi. Si l'on injecte dans la cavité péritonéale de cobayes ou de lapins une certaine quantité (0 c. c. 50 pour 100 grammes d'animal) de bouillon de *B. coli* sans indol, on observe dans certains cas la mort de l'animal par péritonite dans les quarante-huit heures. A l'autopsie on retrouve dans le péritoine, souvent même dans le sang du cœur, le *B. coli* injecté, qui reste modifié et qui, ensemencé en eau peptone Dunham, donne une réaction d'Ehrlich négative, donc continue à ne plus produire d'indol. Si, la dose étant moins forte, l'animal ne meurt pas (0 c. c. 2 pour 100 grammes), on peut, par ponction péritonéale le lendemain, retrouver le *B. coli* modifié injecté et toujours privé de la propriété de produire de l'indol. Des témoins, injectés dans les mêmes conditions de *B. coli* normal, donnent à la ponction péritonéale un *B. coli* produisant de l'indol. Il convient d'éviter toute contamination soit par la peau, soit par perforation intestinale pour ne pas introduire des *B. coli* ordinaires qui, évidemment, fausseraient la réaction. La persistance de la modification du *B. coli* se démontre mieux encore par l'exemple suivant : un cobaye

avait été injecté dans le péritoine avec du *B. coli* modifié ; l'animal ayant bien supporté l'injection, présente après quelques jours des phénomènes d'amaigrissement et de cachexie ; en palpant l'abdomen on sent une masse du volume d'une noix au milieu de la cavité péritonéale ; cette masse, ponctionnée dix jours après l'injection, contenait du pus ; ce pus ensemencé sur gélose montre après vingt-quatre heures une culture pure de *B. coli*, Gram négatif, qui fait fermenter les sucres, ne liquéfie pas la gélatine, etc., mais continue à ne pas donner d'indol.

Voilà donc un *B. coli* modifié, retiré après dix jours de la cavité péritonéale d'un cobaye où il a provoqué un abcès à évolution lente et qui reste néanmoins modifié quant à la propriété de ne plus produire d'indol. La nouvelle race semble donc fixe, puisque par un moyen aussi efficace que le passage dans l'animal, il n'est pas possible de lui rendre ses propriétés perdues. De même le passage pendant longtemps sur des milieux nutritifs variés ne rend pas à ce *B. coli* la faculté de produire de l'indol. Il ne semble pas y avoir de rapport entre la quantité d'indol produite et la virulence ; néanmoins, comme j'avais fait agir sur ce *B. coli* un toxique comme le phénol, capable de l'atténuer, j'ai institué une série d'expériences pour comparer la virulence du *B. coli* modifié avec celle du *B. coli* normal de la même souche primitive. Les résultats ont été peu nets ; d'une manière générale, la virulence du microbe normal est plus grande vis-à-vis des cobayes ou des lapins, mais cette différence n'est pas très marquée. On ne peut donc pas considérer la perte de la propriété indoligène comme une *atténuation*, mais bien comme une *modification*, car toutes les autres propriétés biochimiques du nouveau microbe se manifestent avec autant d'énergie que chez le type primitif. La virulence est évidemment affaiblie par les passages en milieu phénolé, mais promptement elle réapparaît par passages en milieux normaux.

Il était intéressant d'approfondir l'étude du nouveau *B. coli* par l'étude des réactions d'agglutination, de déviation de l'alexine, etc... Dans ce but, ayant immunisé des cobayes et lapins contre le *B. coli communior normal* et contre le *B. coli communior* sans indol, j'ai pu comparer l'action des sérums ainsi obtenus sur ces deux microbes.

L'étude des propriétés agglutinantes des sérums des cobayes et lapins immunisés contre le *B. coli* normal montre que ce sérum agglutine le *B. coli* normal et le *B. coli* modifié à peu près avec la même intensité. L'agglutination du *B. coli* modifié semble accrue quand on se sert de spécimens de ce *Coli* récemment cultivés en milieu phéniqué ; mais cette différence n'est pas considérable.

Les expériences exécutées avec du sérum d'animaux immunisés contre le *B. coli* modifié montrent que ce sérum n'a acquis *aucun pouvoir agglutinant contre le B. coli normal*, mais agglutine *exclusivement* le *B. coli* modifié. Le *B. coli* modifié, cultivé récemment en milieu phéniqué, est plus agglutinable encore par le sérum *anticoli* modifié.

Plus de trente expériences de ce type furent exécutées successivement avec les sérums de douze cobayes ou lapins différents, et toutes donnèrent des résultats superposables. Comme contrôle je me suis servi, soit de sérum de cobaye *anticoli* normal, soit de sérum de lapin *anticoli* normal. Ces sérums se comportaient de façon identique et agglutinaient avec la même intensité à peu près les deux *B. coli* étudiés ici. Les tubes à agglutination étaient mis à l'étuve à 37° pendant deux heures, puis placés à la glacière ; la lecture était faite le lendemain. Le tableau suivant montre une de ces expériences faite avec du sérum de cobayes.

	Sérum anticoli normal.			Sérum anticoli modifié.		
DILUTIONS	NUMÉRO	C. NORMAL	C. MODIFIÉ	NUMÉRO	C. NORMAL	C. MODIFIÉ
1/30	1	+++	+++	1	—	+++
1/60	2	+++	+++	2	—	+++
1/120.	3	+++	+++	3	—	+++
1/240.	4	+++	+++	4	—	++
1/480.	5	++	++	5	—	+
1/960.	6	+	+	6	—	—
1/1920	7	+	—	7	—	—
1/3840	8	±	—	8	—	—
T. sans sérum.	9	—	—	9	—	—

+++, aggl. totale ; ++, aggl. forte ; + aggl. assez forte ; — pas d'aggl.

Cet exemple d'expérience montre que le *B. coli* modifié, tout en étant fortement agglutinable par le sérum *anticoli* normal, ne provoque, quand il est injecté au cobaye, que la formation d'agglutinines qui lui sont rigoureusement spécifiques et qui n'ont, par conséquent, aucune action sur le *B. coli* normal de la même souche primitive, ou sur toute autre race de *B. coli*.

Des expériences comparables furent exécutées avec du sérum de lapin *anticoli communior* normal, ou *anticoli communior* modifié. Ces expériences donnèrent des résultats identiques dans tous les cas. Je crois inutile de multiplier les exemples, toutes les expériences étant absolument identiques quant au fait essentiel ici, c'est-à-dire dans l'absence totale d'agglutination du *B. coli* normal par les sérums *anticoli* modifié, soit de cobaye, soit de lapin. Le contrôle était fourni par un tube sans sérum, ce qui permettait de constater l'absence d'agglutination spontanée. Un autre contrôle était fourni par un sérum de cobaye ou de lapin neufs, qui, évidemment, n'agglutinait aucun *B. coli*.

Ces expériences montrent que le *B. coli* sans indol a subi une modification assez profonde de sa physiologie, puisque injecté aux animaux il fait apparaître dans leur sérum des anticorps d'une spécificité telle qu'ils n'impressionnent pas le microbe normal de la même souche primitive. Ces faits semblent prouver l'apparition d'une vraie race nouvelle. D'autre part, le fait que le *B. coli* modifié est agglutiné par le sérum *anticoli* normal prouve qu'il y a bien là persistance d'un *B. coli*, et non pas une contamination. La parenté primitive de ces deux *coli* se retrouve dans la présence d'agglutinines communes dans le sérum *anticoli* normal, et c'est seulement une différenciation plus intime qui peut expliquer, me semble-t-il, la présence dans le sérum *anticoli* modifié de ces agglutinines si rigoureusement spécifiques. Ces résultats rappellent ceux obtenus par Gay et Claypole (1) avec un *B. typhosus* cultivé sur géloses-ang, ou sur gélose ordinaire. L'immun-sérum obtenu par l'injection du microbe-sang agglutine indifféremment les deux races, tandis que l'immun-sérum obtenu par l'injection du microbe-gélose

(1) Gay et Claypole. *Arch. of Int. Med.*, 12, décembre 1913, p. 615-627.

agglutine celui-ci exclusivement (1). Il en est de même ici.

Les méthodes sérologiques employées pour distinguer entre elles les diverses espèces et les diverses races microbiennes ne donnent pas toutes des résultats aussi rigoureux les unes que les autres. La réaction de l'agglutination est, peut-être, celle qui nous renseigne le mieux sur la spécificité d'une race. La réaction de fixation de l'alexine est moins rigoureuse et ne permet guère de distinguer entre elles les diverses races d'une même espèce [Bordet et Sleeswyck (2), Gay et Claypole (3)]. Les diverses races d'une même espèce possèdent des antigènes communs à l'espèce et d'autres qui sont spécifiques à la race. Ces antigènes, injectés à l'animal, provoquent l'apparition d'anticorps correspondants. La réaction d'agglutination permet de mettre en évidence cette spécificité très grande de certains antigènes caractérisant sérologiquement chaque race. J'ai essayé l'épreuve de la fixation de l'alexine comme moyen de distinguer le *B. coli communior* normal et la nouvelle race, le *B. coli communior* modifié ne produisant plus d'indol (4). Je ne pus pas distinguer, par cette méthode, ces deux *B. coli*. Le résultat le plus frappant de l'ensemble des expériences était que le *B. coli* modifié semblait avoir perdu le pouvoir de fixer l'alexine, même en présence du sérum *anticoli* modifié.

En 1897, Malvoz (5) démontra que certaines substances chimiques (formaline, safraline, etc.) agglutinaient les microbes. Il signala que la formaline agglutinait fortement le *B. typhosus* et non pas le *B. coli*. Poursuivant l'étude des propriétés biologiques du *B. coli* sans indol, j'ai pensé à essayer l'agglutination de ce microbe par les agents chimiques (acide acétique et formaline). L'agglutination par l'acide acétique était très nette, mais le *B. coli* sans indol n'était ni plus, ni moins, agglutiné par ce réactif que le *B. coli* normal. La formaline, par contre, agglutine sensiblement le *B. coli* sans indol. On sait que le *B. typhosus* est fortement agglutiné par ce réactif à la différence du *B. coli* (Malvoz). Dans le but de vérifier une

(1) Bordet. *L'immunité*, 1920, p. 561.
(2) Bordet et Sleeswyck. Ces *Annales*, **24**, 1910, p. 476-494.
(3) *Loc. cit.*
(4) *C. R. Soc. de Biol.*, **86**, 27 mai 1922, p. 113.
(5) Malvoz. Ces *Annales*, **11**, 1897, p. 582-589.

« Eberthisation » possible, j'ai essayé l'agglutination du *B. coli* sans indol par des sérums antityphique, antipara A et antipara B ; aucune agglutination ne se produisit. On ne peut donc pas penser ici à une « Eberthisation ». Cette différence d'agglutination par une substance chimique telle que la formaline n'est-elle pas due à une modification profonde du chimisme microbien décelée déjà par la suppression de la fonction indoligène ? Peut-être aussi la modification du microbe produit-elle des changements physiques se traduisant par une plus grande aptitude à l'accolement et à la floculation ?

CONCLUSION

Le *B. coli communior*, cultivé pendant au moins un mois et repiqué chaque jour dans des tubes de bouillon additionnés de quantités croissantes de phénol jusqu'à la limite de 0.2 p. 100, perd la propriété de donner de l'indol en eau peptone Dunham (réaction d'Ehrlich négative). Cette modification se transmet héréditairement et indéfiniment (seize mois au moins) alors que le microbe est replacé dans les milieux nutritifs les plus variés et ne contenant, bien entendu, aucune trace de phénol ou de tout autre agent modificateur. Ce *B. coli* contient des substances qui se comportent comme des antigènes différents de ceux de la souche primitive, car, injecté aux animaux, il provoque dans leur organisme l'apparition d'anticorps (agglutinines qui sont rigoureusement spécifiques vis-à-vis de ce nouveau *B. coli*. Ces agglutinines ne réagissent nullement avec les antigènes du *B. coli* normal). Cependant le *B. coli* modifié est bien une race du groupe *B. coli communior*, car, outre que ses propriétés biochimiques sont inchangées (à part la fonction indoligène) il reste agglutinable à un taux très élevé par le sérum *anticoli communior* normal. Ce sérum n'agglutinait lui-même que les *B. coli communior* et non pas les *coli communis*, etc. Il y a là l'indice de la parenté primitive des deux races dont l'une dérive, d'ailleurs, de l'autre. Les antigènes caractérisant le *coli communior* lui ont été conservés puisque ce nouveau *coli* réagit vis-à-vis d'eux ; mais en plus l'action prolongée du phénol lui a imprimé une vicia-

tion nutritive héréditaire telle que la chimie cellulaire en a été en partie modifiée, et que certaines substances existent dans ce nouveau *coli* qui peuvent agir comme antigènes spécifiques. Cette viciation de la biochimie de ce bacille se révèle, me semble-t-il, très bien par la suppression héréditaire de la production d'indol ; en effet, ceci révèle une diminution, ou une transformation du pouvoir de digestion, de la capacité de sécréter les substances, diastases ou catalyseurs, qui détruisent certaines grosses molécules organiques. On sait, en effet, que l'indol est produit par l'action des microbes sur le tryptophane contenu dans la peptone des milieux de culture. Cette modification biochimique ne peut cependant pas être appelée une dégénérescence, un amoindrissement de la vie des microbes puisqu'ils continuent à se développer abondamment sur tous les milieux qui leur sont propres, et qu'injectés aux animaux ils les tuent à la même dose sensiblement que le microbe normal de la même souche primitive. Il est évident qu'un microbe dégénéré, qui tuerait un animal auquel il aurait été injecté, non seulement serait régénéré, mais encore retrouverait dans cette exaltation toutes ses propriétés primitives. Dans ce cas-ci, le *B. coli*, même après avoir tué des cobayes, reste modifié quant à l'absence de production d'indol et quant à ses propriétés antigéniques. Il est probable que l'action du phénol, incapable de tuer, à la dose de 0,2 p. 100, des microbes qui y ont été progressivement adaptés, a pu néanmoins modifier profondément leur physiologie et leur métabolisme ; cette empreinte du toxique, étant continuée pendant plusieurs générations, a successivement dû éliminer les individus non adaptables à cette nouvelle circonstance ; les autres, plus résistants, plus plastiques, ont transmis héréditairement à leur descendance les caractères nouveaux de leur physiologie. L'espace de temps (16 mois) relativement long qui s'est écoulé depuis l'apparition de cette nouvelle race permet, je crois, de dire qu'elle est définitivement séparée de la souche primitive, d'où elle dérive. Ces faits prouvent, une fois de plus, la plasticité des races microbiennes et la possibilité de démontrer chez elles, par l'expérimentation du laboratoire, les lois générales de l'évolution.

LES EFFETS DU PNEUMOTHORAX ARTIFICIEL CHEZ LE LAPIN

par le Dr Jean S. VALTIS.

Frédérick Schaw (1), se basant sur l'action si favorable du pneumothorax artificiel chez l'homme, a étudié ses effets en injectant des bacilles tuberculeux humains dans la trachée ou dans la circulation sanguine de lapins préalablement opérés de pneumothorax.

Ces expériences ont porté sur quatre lapins.

Il pratique chez deux d'entre eux un pneumothorax du poumon droit avec pression terminale variant entre 0 + 2 et + 2 + 4 d'eau. Immédiatement après, il injecte 1 milligramme de bacilles tuberculeux humains virulents, au premier *dans la veine de l'oreille* et à l'autre *dans la trachée*.

Il sacrifie le premier animal seize jours après l'infection et il constate dans le lobe inférieur du poumon droit des lésions de tuberculose caséeuse et deux tubercules miliaires au sommet du lobe supérieur du même poumon. Les autres organes sont normaux.

Le second animal est sacrifié cinq jours après l'inoculation, et on trouve dans le lobe inférieur du poumon droit six tubercules miliaires, tandis que le poumon gauche est sain.

Chez les deux autres lapins, il pratique le pneumothorax immédiatement après l'inoculation de 1 milligramme de bacilles tuberculeux humains virulents dans la veine.

Il sacrifie l'un d'eux vingt jours après l'inoculation et trouve des lésions de tuberculose caséeuse au lobe moyen et au lobe inférieur du poumon droit.

Les autres organes ne présentent rien d'anormal.

Chez l'autre lapin, huit jours après l'inoculation, il trouve un certain nombre de tubercules miliaires sur le poumon droit, tandis que le poumon gauche est sain.

(1) *Amer. Review of tub.*, t. III, septembre 1919, p. 410.

Contrairement donc à son attente, il constate que, chez ces animaux, le poumon du côté opéré devient tuberculeux, alors que le poumon opposé reste sain.

Après lui, H. J. Corper, Sailing Simon et O. B. Reuch (1), H. J. Corper et O. B. Reuch (2) ont repris les mêmes expériences chez le lapin, les premiers en faisant un hydrothorax et les seconds un pneumothorax.

Ces auteurs assurent ne pas avoir remarqué de différences appréciables dans le développement des lésions tuberculeuses chez les animaux opérés et chez les témoins.

Sur les indications de notre maître, M. le professeur Calmette, nous avons repris ces expériences dans son laboratoire, à l'Institut Pasteur, avec quelques modifications qui seront ci-après indiquées.

Nos essais ont porté sur six lapins adultes, du poids moyen de 2 kilogr., dont deux ont été conservés comme témoins.

Première expérience.

Le lapin 0-81 est opéré le 10 février de pneumothorax artificiel du poumon droit.

Pour cette opération l'animal est fixé sur l'appareil de contention de *Malassez*. Pour les insufflations, on utilise l'appareil à pneumothorax de *Küss*. Au moyen du perforateur de *Küss*, on traverse la paroi costale et la plèvre au niveau du 4e espace intercostal.

On observe alors des oscillations franches et une tension initiale de 0-4 d'eau. Après insufflation de 60 cent. cubes d'azote la pression monte à + 2 + 4 d'eau.

Pour les insufflations ultérieures, nous avons utilisé une petite aiguille de seconde insufflation et maintenu la même pression terminale.

Le 13 février, seconde insufflation avec la même pression terminale.

Le 14 février, nous essayons de voir aux rayons X les résultats des insufflations. Il nous a été impossible de distinguer les limites du moignon pulmonaire, mais nous avons constaté nettement un refoulement du cœur du côté opposé, ainsi qu'un abaissement de l'hémidiaphragme droit.

Le 15 février 1922, nouvelle insufflation dans les mêmes conditions.

Le 18 — — —

Le 20 — nous injectons dans la veine de l'oreille 0 gr. 01 de bacilles humains (souche dénommée *Humaine Ratti*).

Le 24 — insufflation d'azote avec même tension terminale.

Le 28 — — —

Le 2 mars 1922, — —

Le 6 — — —

(1) *Amer. Review of tub.*, Balt , 1920.

(2) *Amer. Review of tub.*, Balt., 1920.

Le 9 mars 1922, insufflation d'azote avec même tension terminale.
Le 13 — — —
Le 17 — — —
Le 22 — — —
Le 26 — — —
Le 30 — — —
Le 4 avril 1922, — —
Le 9 — — —
Le 14 — — —

Le 15 avril 1922, c'est-à-dire cinquante-deux jours après l'infection, l'animal est sacrifié. A l'autopsie, les deux poumons présentent des granulations tuberculeuses qui sont surtout abondantes sur le poumon droit correspondant au côté opéré que nous avons trouvé rétracté vers le hile.

Pas de lésions macroscopiques sur les autres organes.

Deuxième expérience.

Le lapin B. 82 a été opéré le 10 février 1922 de pneumothorax artificiel du poumon droit. Nous avons utilisé la même technique et obtenu une tension terminale de 0 + 4 d'eau.

Le 13 février 1922, nouvelle insufflation dans les mêmes conditions.
Le 14 — même image que le précédent aux rayons X.
Le 15 — nouvelle insufflation avec pression terminale 0 + 4 d'eau.
Le 18 — — — —
Le 21 — — — —
Le 22 — nous injectons dans la trachée de l'animal 0 gr. 01 de bacilles humains (souche dénommée *Humaine Ratti*).
Le 24 — insufflation d'azote avec pression terminale de 0+4 d'eau.
Le 28 — — — —
Le 4 mars 1922, — — —
Le 8 — — — —
Le 11 — — — —
Le 15 — — — —
Le 19 — — — —
Le 22 — — — —
Le 26 — — — —
Le 30 — — — —
Le 4 avril 1922, — — —
Le 9 — — — —
Le 13 — — — —
Le 17 — — — —

Le 20 avril 1922, soit cinquante-six jours après l'inoculation, l'animal est sacrifié. A l'autopsie, on trouve le poumon droit rétracté vers le hile et, sur les deux poumons, des lésions de tuberculose ulcéro-caséeuse beaucoup plus accentuées du côté droit correspondant au poumon opéré.

Pas de lésions macroscopiques sur les autres organes.

Troisième expérience.

Le lapin 0-92 reçoit dans la trachée, le 20 mars 1922, une injection de 0 gr. 01 de bacilles humains (souche dénommée *Humaine Ratti*).

Le 27 avril 1922, c'est-à-dire trente-sept jours après l'inoculation, nous

pratiquons, toujours dans les mêmes conditions, un pneumothorax artificiel du poumon droit avec tension terminale 0 + 4 d'eau.

Le 30 avril 1922, nouvelle insufflation avec tension terminale 0 + 4 d'eau.
Le 2 mai 1922, — — —
Le 6 — — — —
Le 9 — — — —
Le 12 — insufflation avec pression terminale 0 + 4 d'eau.
Le 15 — c'est-à-dire cinquante-cinq jours après l'inoculation, l'animal meurt après l'insufflation. A l'autopsie, nous trouvons le poumon droit rétracté vers le hile et des lésions de pneumonie caséeuse sur les deux poumons, surtout prononcées à droite.

Les autres organes ne présentent macroscopiquement aucune lésion de tuberculose.

Quatrième expérience.

Le lapin 0-91 reçoit, le 20 mars 1922, 0 gr. 01 de bacilles humains (*Humaine Ratti*) dans la veine de l'oreille.

Le 27 avril 1922, soit trente-sept jours après la première infection, nous injectons de nouveau dans la trachée 0 gr. 01 du même bacille.

Le 20 mai 1922, soit vingt-trois jours après la seconde infection, nous pratiquons un pneumothorax artificiel du poumon droit avec pression terminale 0 + 4 d'eau.

Le 23 mai 1922, insufflation d'azote dans les mêmes conditions.
Le 26 — — —
Le 29 — — —
Le 1er juin 1922, — —
Le 4 — — —
Le 7 — — après laquelle l'animal meurt.

A l'autopsie, le poumon droit est rétracté vers le hile et des lésions de pneumonie caséeuse, plus accentuées à droite; existent sur les deux poumons.

Les autres organes sont indemnes.

Cinquième expérience.

Le lapin témoin B-84 est inoculé par la voie trachéale, le 14 février 1922, avec 0 gr. 01 de bacilles humains (*Humaine Ratti*).

Sacrifié le 10 avril 1922, soit cinquante-six jours après l'infection, l'animal présente d'assez nombreuses granulations pulmonaires. Cependant les lésions sont nettement moins prononcées que chez le lapin infecté dans les mêmes conditions, mais opéré de pneumothorax.

Sixième expérience.

Le lapin témoin B-96 reçoit dans la veine de l'oreille, le 11 février 1922, 0 gr. 01 de bacilles humains (*Humaine Ratti*).

Le 21 mars 1922, soit trente-sept jours après la première infection, on injecte de nouveau dans la trachée 0 gr. 01 du même bacille.

Le 30 avril 1922, soit trente-huit jours après la seconde infection, l'animal est sacrifié. Ses deux poumons sont parsemés de granulations tuberculeuses plus abondantes sur les sommets et les bords postérieurs. Ces lésions sont infiniment moins importantes que les lésions du lapin correspondant, traité par le pneumothorax artificiel.

CONCLUSIONS

Il ressort de nos expériences :

1° Que *les lapins infectés expérimentalement de tuberculose humaine, et opérés ensuite de pneumothorax artificiel, présentent des lésions de tuberculose pulmonaire beaucoup plus avancées et plus étendues que les animaux témoins* ;

2° Les mêmes résultats sont obtenus lorsque l'opération du pneumothorax est faite *avant l'infection expérimentale* ;

3° *Chez les lapins tuberculeux, opérés de pneumothorax artificiel, les lésions pulmonaires sont plus accusées sur le poumon opéré.*

Nous constatons donc avec Schaw que, contrairement à ce qu'on observe chez l'homme tuberculeux, le pneumothorax facilite, chez le lapin infecté, le développement des lésions tuberculeuses, notamment du côté opéré.

(Laboratoire de M. le professeur Calmette à l'Institut Pasteur.)

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

36e ANNÉE OCTOBRE 1922 N° 10

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

LA PHAGOCYTOSE

par M. NICOLLE et E. CÉSARI.

Dans nos travaux sur les toxines, les antigènes et les anticorps..., il n'a pas été fait directement mention de la phagocytose. Un tel mutisme pouvant paraître plus que singulier, nous exposons aujourd'hui brièvement la manière dont on doit, selon nous, concevoir cette question, en dehors de toute idée finaliste et de toute tendance anthropomorphique.

VUE D'ENSEMBLE DE LA PHAGOCYTOSE

On désigne, sous le nom de phagocytose (Metchnikoff), le phénomène en vertu duquel certaines cellules, mobiles ou fixes, englobent et dissolvent (quand elles sont assimilables) les fines particules inorganiques, organiques et organisées. Ce phénomène se trouve lié à l'absence, totale ou partielle, de membrane limitante, à la mobilité, totale ou partielle (dit-on inexactement) et à la présence d'enzymes appropriés. Habituellement, la phagocytose traduit l'incorporation et la digestion, soit d'éléments anatomiques, soit de microbes.

Caractères principaux des phagocytes.

Les cellules, mentionnées précédemment, sont appelées phagocytes. Parmi les protistes, tous ceux qui revêtent (ne

fût-ce que temporairement) la forme amibienne appartiennent à cette catégorie. Chez les plantes, divers éléments, aux parois denses, peuvent digérer les parasites qui les ont envahis « activement »; on les nomme parfois phagocytes, expression évidemment abusive. Chez les animaux (métazoaires) inférieurs, la propriété dont nous parlons est très répandue dans l'économie; quand on remonte l'échelle des invertébrés, on la voit disparaître, d'abord de l'ectoderme, puis, tardivement, de l'entoderme. Chez les vertébrés, sauf le cas (particulier) des éléments nerveux, les phagocytes ne comprennent guère que des représentants du mésoderme; comme types mobiles : les leucocytes du sang et de la lymphe (mono- et polynucléaires surtout — point les lymphocytes), les gros mononucléaires des organes lymphoïdes et de la moelle osseuse, les myéloplaxes de cette dernière — comme types fixes : les endothéliums vasculaires, principalement. Les phagocytes libres peuvent s'agglomérer en plasmodes. Ceux-ci constituent l'une des origines des cellules géantes, mais non la seule; la question est d'ailleurs très complexe.

On envisagera, ici (sauf avis contraire), la phagocytose chez les vertébrés, notamment les animaux de laboratoire et l'homme. Passant sur la structure et l'origine de ses agents, nous rappellerons leurs caractéristiques physiologiques principales et nous prendrons comme types les cellules libres. Chacun sait que ces éléments réagissent non seulement aux influences mécaniques, mais encore aux influences chimiques. Massart et Bordet, Gabritchewsky ont montré que des tubes capillaires, remplis de diverses substances et introduits dans le péritoine ou sous la peau des animaux, offrent, après quelque temps, un « bouchon leucocytaire », qui fait défaut si l'on anesthésie le sujet. Leber avait observé semblable apparence, dans la chambre antérieure de l'œil du lapin (tubes, contenant des extraits de staphylocoque). Des expériences analogues ont été souvent répétées avec succès. Donc, les leucocytes de l'économie peuvent se transporter vers des solutions variées — et, bien plus fréquemment, vers des particules, notamment des microbes (vivants ou non). Ils doivent, avant cela, traverser ordinairement la paroi capillaire saine. Ce phénomène, la diapédèse de Cohnheim, est, lui aussi, entravé par l'anesthésie. Lorsque des

microbes, soit morts, soit peu virulents, sont portés dans les tissus, les vaisseaux se dilatent, la circulation devient plus lente et les globules blancs passent, tôt ou tard, *loco lœso*, s'accumulant près des micro-organismes, qu'ils englobent d'ordinaire le moment venu. La quantité des leucocytes circulants tend à diminuer, mais l'équilibre se rétablit couramment (et au delà), parce que de nouveaux éléments sortent du système lymphoïde, dont l'action formatrice augmente. On observe, d'habitude, une baisse initiale des leucocytes (locaux et sanguins), laquelle simule une destruction inexistante; ainsi, lors d'injection intrapéritonéale, les cellules libres sont refoulées contre les replis séreux, où elles forment de petits amas blanchâtres — lors d'injection intraveineuse, elles se collent sur la paroi des capillaires ectasiés.

On emploie souvent les injections intrapéritonéales de diverses substances, principalement de bouillon, afin d'obtenir, le lendemain, des exsudats riches en leucocytes. Certaines de ces dernières cellules préexistaient dans la séreuse, mais la plupart viennent du sang et y rentrent bientôt *pro parte*. Notons encore que la réaction abdominale fait défaut chez l'animal anesthésié.

Nous aborderons ultérieurement, avec les détails voulus, la question des enzymes que sécrètent les phagocytes.

Phagocytes et inflammation.

La phagocytose, décrite d'abord par Häckel, puis étudiée par Recklinghausen, Langhans, Kölliker..., a été envisagée, comme phénomène très général, par Metchnikoff. On la rencontre fréquemment, dans la vie normale et pathologique. Normalement : lors de la destruction des éléments usés, pendant les stades successifs de l'évolution; lors des métamorphoses de divers animaux; lors de la résorption de l'os cartilagineux... Anormalement : au cours des procès réactionnels, que caractérise le terme, très élargi aujourd'hui, d'inflammation et au cours de beaucoup d'infections (et infestations). De nombreux cas d'immunité affectent, également, des relations connues avec la phagocytose. Nous laisserons de côté ce qui caractérise la vie normale et nous envisagerons, sans tarder, l'inflammation.

Strictement parlant, il n'y a d'*inflammation* que chez les

tissus animaux pourvus de vaisseaux; on admet, par extension, qu'il y a aussi inflammation chez tout organisme, animal (même sans vaisseaux) et végétal, dont les cellules, fixes ou mobiles, « réagissent » aux causes les plus variées, en sortant de leur état ordinaire et présentent, alors, des hypertrophies, des hyperplasies, des différenciations inhabituelles, des migrations (qu'accompagne souvent la phagocytose). Cette conception, fort vaste, rend assez incertaine la limite entre l'inflammation et les néoplasies — la chose est certainement très fâcheuse. Comme les Anciens le remarquaient justement, on doit séparer l'inflammation des dégénérescences « pures »; il sied, cependant, d'ajouter que l'inflammation (par ses causes et ses effets) provoque toujours des dégénérescences et, qu'inversement, les dégénérescences amènent souvent après elles des actes réactionnels. Tous ces points, importants doctrinalement, n'offrent qu'un intérêt secondaire ici. Résumons, maintenant, les rapports de l'inflammation et de la phagocytose.

Les migrations des cellules mobiles et l'englobement éventuel consécutif se rencontrent chez les invertébrés dépourvus de vaisseaux et chez les tissus invasculaires des autres animaux, comme conséquence de la présence insolite de substances variées, notamment de particules inertes ou vivantes. Les cellules mobiles accumulées périssent, soit en partie, soit totalement. Dans le second cas, il se produit une collection (abcès, *largo sensu*). Dans le premier, les éléments morts seront repris par des éléments bien vivants de même nature; parmi les éléments saufs, certains pourront retourner vers les régions d'où ils émanent, mais la majorité se transformera en cellules fixes.

Chez les animaux et tissus vasculaires, surtout chez les vertébrés supérieurs, les phagocytes interviennent fréquemment. Il faut cependant distinguer. Dans les procès congestifs (volontiers accompagnés d'exsudation séreuse), dans les catarrhes muqueux, dans les œdèmes aboutissant à la nécrose, dans les manifestations pseudo-membraneuses, leur rôle n'est pas de premier plan — dans les catarrhes purulents, les bourbillons, abcès et granulomes, il se révèle au contraire fort notable. Dans la genèse des scléroses, cellules locales et cellules émigrées ont leur part, différente selon les circonstances.

On doit se représenter l'inflammation proprement dite comme, avant tout, une réaction vasculaire, commandant l'issue du plasma et des leucocytes. Le rôle de ces derniers varie beaucoup, suivant les modalités qualitatives et quantitatives de la phagocytose; leur sort n'est pas moins divers. Donnons quelques exemples. Dans les bourbillons, l'exsudat fibrino-leucocytaire se trouve mortifié en bloc; dans les abcès, chaque globule blanc sera nécrosé isolément; dans les granulomes, les phagocytes engendrent les éléments épithélioïdes et (partiellement) les cellules géantes. Toujours, une quantité plus ou moins grande des leucocytes périra et la fraction non évacuée au dehors deviendra la « proie » des mononucléaires; toujours, il y aura production d'éléments conjonctifs, aux dépens de certains globules blancs épanchés; parfois, enfin, on verra la diapédèse « inverse » marquer le retour de cellules mobiles, ordinairement peu abondantes, en pleine circulation. Les réactions se combinent à l'infini, lors d'inflammation chronique.

Phagocytose et infection.

Quels sont, chez les animaux, les rapports de la phagocytose et de l'*infection*? Pour le savoir, demandons-nous où se développent les divers types de microbes. Les protozoaires habitent, communément, des cellules extramésodermiques; il faut, cependant, faire une exception pour les trypanosomes et surtout les *leishmaniæ*, tantôt libres, tantôt intraphagocytaires. Les champignons et les bactéries (dont il sera uniquement question maintenant) peuvent croître dans les humeurs ou dans les phagocytes; cela dépend, avant tout, de leur virulence et de la résistance de l'hôte. Il est des parasites qui « affectionnent » les humeurs, tels les spirilles de la fièvre récurrente; ces germes s'y développent électivement; la vie intracellulaire ne constitue pour eux qu'un mode de conservation aléatoire. D'autres organismes mènent l'existence intrahumorale en proportion directe de leur virulence; plus celle-ci baisse, plus on les voit dans les phagocytes et moins ils « s'y trouvent bien » (pneumocoque, streptocoque, *pasteurellæ*...). Enfin, certains microbes ne peuvent guère vivre qu'englobés; on les décèle, éventuellement, dans le sang (par les cultures),

mais ils sont incapables de s'y multiplier (méningocoque, gonocoque, staphylocoque...); il faut, alors, parler de bactériémie et non de septicémie, cette dernière expression signifiant : croissance au sein des humeurs; parmi les parasites dont nous parlons, on compte la plupart des agents des infections chroniques (tuberculose, lèpre, morve...). On nous objectera, immédiatement, que tous les microbes pyogènes peuvent se rencontrer libres dans le pus, où souvent ils pullulent; nous répondrons que le pus n'est point une humeur normale et que l'abondance des germes dans ce liquide suit, *pari passu*, la fonte leucocytaire. Les pus constituent de vrais milieux artificiels, créés par cette fonte. — Un type assez spécial est celui que représente le bacille du rouget (et « consorts »), lequel habite les leucocytes et l'endothélium vasculaire; suivant sa virulence et la sensibilité du sujet, éclatent des accidents aigus ou chroniques. — Somme toute, l'englobement, pour les parasites qui le provoquent, tantôt aboutit à une mort rapide, suivie de digestion, tantôt permet une existence de « qualité » et de durée variables.

Quelques détails, maintenant. Commençons par les infections aiguës. La maladie peut demeurer purement locale, divers microbes se révélant incapables d'essaimer au loin (tel, le bacille du chancre mou). Parasites de faible activité, l'économie leur devient de plus en plus hostile et ainsi survient la guérison (nous verrons, ultérieurement, le sens du mot hostile). Ailleurs, on observe une infection locale, compliquée de « métastases » (par bactériémie), fait très commun et dû à ce que la virulence dépasse, ici, comme intensité, celle des agents mentionnés précédemment. Un pas encore et nous avons la septicémie (par généralisation sanguine d'emblée ou lymphatique, puis sanguine), le développement libre et exubérant au sein des humeurs, révélateur de la « grande virulence ». En injectant certains germes (streptocoque, pneumocoque, vibrion cholérique...) dans le péritoine du cobaye, on détermine (selon leur activité — et leur dose, pour la même activité) des infections locales ou générales; pour les premières, les microbes se trouvent rapidement englobés et détruits; pour les secondes, l'englobement, tardif et incomplet, laisse la majorité des parasites végéter hors des leucocytes et

franchir les vaisseaux. Ces germes, très actifs, n'impressionnent nullement les globules blancs, qui s'incorporent alors, sans difficulté, d'autres microbes (avirulents ou peu virulents) qu'on leur offre. Que dire des infections toujours sanguines (fièvre récurrente)? Les spirilles commencent par se multiplier dans le sang, déterminant l'accès caractéristique. Quand les humeurs deviennent hostiles au parasite, il y périt et la maladie prend fin, à moins que quelques individus ne se soient conservés dans les phagocytes des organes lymphoïdes. Certains d'entre ces individus fournissent alors une nouvelle génération sanguicole — et ainsi de suite (mais pas longtemps). On va, sans doute, nous faire la remarque suivante : la fièvre récurrente n'est point parmi les maladies fort graves et cependant, d'après votre conception, cette « septicémie d'emblée » révèle, chez son agent, une virulence notable. Voici ce que nous répondrons : les termes virulence — et résistance — expriment des propriétés intimement liées; c'est l' « intensité de l'infection » qui traduit cliniquement leur rapport, pour chaque cas particulier. A résistance constante *seulement*, la virulence peut se mesurer avec rigueur — à virulence constante *seulement*, la résistance. Autrement, on ne saurait apprécier, répétons-le, que l'intensité de l'infection. Dans la récurrente, cette intensité demeure, d'ordinaire, peu considérable; la virulence du spirille doit être tenue pour marquée (par analogie avec celle des parasites tantôt libres, tantôt intraphagocytaires), mais la résistance de l'organisme est (et surtout devient vite) très haute.

Nous ne pouvons esquisser, même superficiellement, l'histoire des infections chroniques. Ici, les parasites habitent les éléments phagocytaires. Ils se généralisent, plus ou moins, par les voies lymphatique et sanguine. Les altérations qu'ils provoquent sont, tantôt de nature progressive (inflammations variées, tendant à la sclérose), tantôt de nature régressive (caséification, ramollissement). Parfois, ils semblent se conserver longtemps au sein des cellules qui les hébergent; on observe alors un état d'équilibre, identique à celui que les Auteurs appellent ailleurs symbiose. D'autant que, dans les granulomes, les microbes, soit englobés, soit entourés par les cellules géantes ou épithélioïdes, présentent volontiers des

modifications morphologiques, qui sont manifestement la conséquence de la « vie associée » avec les éléments de l'économie (actinomycose, botryomycose, certaines formes de tuberculose...). Mais de tels états d'équilibre, du reste précaires, ne comptent pas auprès des désordres qui traduisent l'activité des germes pathogènes. — Quelle est la cause de la chronicité des infections? Certains parasites ne déterminent réellement que des maladies lentes : il faut surtout incriminer leur virulence médiocre; d'autres engendrent, selon les cas, des maladies aiguës ou chroniques : il faut voir, dans la résistance variable de l'organisme, la raison principale des différences de rapidité observées. — On dira ici fort peu de chose de l'*infestation* (gros parasites animaux), où la phagocytose se manifeste surtout par l'accumulation de cellules mobiles autour de l'agent morbide. Ainsi se produisent des enkystements, dont l'évolution diffère suivant les circonstances. — Au début de ce travail, nous avons rappelé que certaines cellules végétales digèrent les microbes qui les ont envahies « activement »; il s'agit de filaments mycéliens (mycorrhyzes). Nous avons ajouté que le nom de phagocytes, donné à ces éléments, nous paraissait abusif; il ne concorde pas, en effet, avec la définition admise depuis Metchnikoff. Quel que soit l'intérêt des faits, les définitions ont aussi le leur et ne sauraient être constamment élargies, donc rendues plus vagues. Qu'on se rappelle le cas de l'inflammation. Il sied, toutefois, de retenir la digestion intracellulaire indiquée, dont les causes restent encore douteuses, bien que vraisemblables (action d'enzymes, succédant à une action d'anticorps) et dont les effets se traduisent par la destruction éventuelle du champignon.

Phagocytose et immunité.

Examinons, maintenant, les relations de la phagocytose et de l'*immunité* (chez les animaux), nous limitant au cas des parasites et de leurs poisons spécifiques (toxines). L'immunité (état réfractaire, indifférence) tient : tantôt, à ce qu'*in vivo* le parasite ne trouve point les aliments qui lui sont nécessaires et le poison, les substances qu'il est capable d'attaquer — tantôt, à ce que l'organisme détruit le premier et « neutralise »

le second — tantôt, enfin, à ce que les deux causes agissent de concert. Pratiquement, la distinction peut rester malaisée et l'on connaît mieux les facteurs dont la présence se montre efficace (notamment les anticorps) que les facteurs dont l'absence amène l'état réfractaire.

Commençons par l'immunité contre les champignons et surtout les bactéries (nous dirons ensuite un mot des protozoaires). Cette immunité se montre, suivant les cas, *naturelle* ou *acquise*. Etudions, d'abord, la résistance acquise, qui, seule, explique la résistance naturelle. On vaccine, d'ordinaire, un animal, en lui administrant des germes soit vivants, soit morts. Cette *immunité*, dite *active*, peut être poussée très loin, quand on répète l'opération et que l'on augmente progressivement les doses : le sujet sera alors qualifié d'hyperimmunisé. Supposons, à présent, une injection intrapéritonéale des germes septicémiques indiqués plus haut; on introduit la quantité sûrement mortelle, chez le cobaye neuf et le cobaye vacciné : chez le neuf, tableau connu; chez le vacciné (sauf au cas de narcose), même apparence que lors de l'emploi d'une dose totalement inoffensive. Donc, ici, les parasites sont englobés par les phagocytes et y disparaissent totalement quand l'immunité est suffisante. Cependant, s'il s'agit de résistance très forte et de microbes fragiles, l'organisme peut réagir sur eux hors des cellules; on observe alors des changements d'aspect (ainsi, la transformation des vibrions en granules), la mort et (plus rarement) la dissolution complète des parasites. Il résulte nettement de là qu'une même cause doit commander à la destruction intra- et extracellulaire. Quelle cause? Examinons le sérum des individus vaccinés (et surtout hypervaccinés) contre les germes dont nous avons déjà parlé. Ce sérum offre des propriétés aujourd'hui classiques. *In vivo*, il confère l'immunité (et, éventuellement, l'hypersensibilité) aux animaux neufs. *In vitro* (chauffé), il agglutine les microbes, précipite leurs extraits et fixe le complément en leur présence; il peut également (quand il est frais), modifier la forme des germes, les tuer et les attaquer (ces derniers effets sont encore moins marqués que dans l'organisme, où les agents nécessaires se renouvellent sans discontinuer); il détermine enfin (comme *in vivo*), la phagocytose, ainsi que nous le verrons plus tard.

Les substances néoformées, auxquelles les humeurs (et, partant, l'économie) doivent d'être devenues « hostiles » vis-à-vis des microbes, substances de nature inconnue, ont été appelées anticorps. Nous avons indiqué, ailleurs (*Annales de l'Institut Pasteur*, juin 1922), quelle conception on pouvait s'en faire provisoirement. Donc, pour les cas cités, l'immunité conférée par les sérums (*immunité passive*) reconnaît comme cause l'introduction des anticorps; l'immunité active, naturellement, la production de ceux-ci. Mais, lorsque la résistance n'a pas été poussée très loin, les humeurs ne semblent point toujours contenir d'anticorps et, lorsque la vaccination date de quelque temps, les substances « protectrices » s'évanouissent en apparence. Certains auteurs infèrent de là qu'elles représentent de simples conséquences de l'immunité et non ses agents véritables. Inutile de discuter une telle opinion. Il faut cependant indiquer pourquoi nous faisons intervenir des substances *que nous ne voyons pas*. Nous ne pouvons les voir, évidemment, qu'autant que nos méthodes le permettent, et ces méthodes restent encore bien imparfaites. Qu'on immunise des animaux : les anticorps apparaîtront dès que la technique saura les déceler; ils ne naîtront point subitement; la veille du jour où ils deviennent appréciables, ils existaient certainement. De même, pour leur disparition; comment admettre qu'ils passent brusquement d'une valeur définie à zéro? D'ailleurs, le sujet, pauvre en anticorps, ne se trouve pas « démuni »; ces substances se régénèrent sans arrêt et, après peu de temps, leur quantité suffit souvent pour la destruction des parasites. Celle-ci se montre d'autant plus lente et plus intracellulaire que les anticorps sont sécrétés moins abondamment. Tel est précisément le cas, dans l'immunité naturelle. Où s'élaborent les anticorps? On l'ignore. Le fait que les phagocytes digèrent les microbes a suggéré l'idée qu'ils engendrent, par cela même, les substances « protectrices »; mais il convient de remarquer qu'on ne voit pas quel rôle peut jouer la phagocytose, lorsqu'il s'agit d' « antigènes solubles » : toxines, humeurs, extraits bactériens clairs « comme de l'eau »; or, de tels antigènes déterminent, savons-nous, la formation d'anticorps excessivement actifs. La question reste donc ouverte.

En provoquant des exsudats intra-abdominaux chez diverses espèces animales, on leur permet de supporter la dose mortelle de certains germes ; on « escamote » ainsi l'infection, sans créer d'état réfractaire. Le mécanisme du phénomène nous paraît simple : anticorps normaux et globules blancs affluent parallèlement, d'où résultat « prévu ».

Rappelons que la maladie naturelle se trouve fréquemment suivie d'immunité, pour les mêmes motifs que la maladie expérimentale (et la vaccination). — Nous laisserons de côté l'*immunité héréditaire*, peu étudiée au point de vue phagocytose. — Un mot, seulement, de la *résistance aux protozoaires* ; les conditions respectives de la destruction extra- et intracellulaire y sont encore médiocrement précisées aujourd'hui. — Reste l'*immunité contre les gros parasites*. Chaque fois que l'on note une réaction leucocytaire (un enkystement, avant tout), il sied de considérer les anticorps comme jouant quelque rôle. Mais l'indifférence aux gros parasites doit tenir, principalement, à des questions d'alimentation non « adéquate » et de composés nocifs (lesquels ?), très efficaces contre le métazoaire en jeu (dans l'indifférence aux microbes, ces questions interviennent éventuellement aussi, d'après nous).

Nous avons l'air de parler ici de l'immunité comme d'un phénomène absolu ; tel n'est point le cas ordinaire. Le mécanisme de la *résistance incomplète* se confond alors avec celui de la guérison des espèces sensibles et la destruction intracellulaire des germes s'y rencontre couramment.

En terminant ce chapitre, il faut bien s'entendre sur les rapports de la phagocytose et de l'état réfractaire. L'immunité au regard des microbes est, avant tout, une affaire d'anticorps (comme on l'a vu) ; la phagocytose, également (comme on le verra) ; mais ces deux effets de la même cause conservent leur autonomie. Ainsi, bien que relativement peu importante, la destruction extracellulaire des germes demeure incontestable ; inversement, beaucoup d'organismes habitent régulièrement les phagocytes, ce qui ne les empêche pas d'amener la mort des sujets infectés.

Pour l'*immunité antitoxique*, elle n'offre aucune relation visible avec la phagocytose ; aussi, devons-nous la passer ici sous silence, malgré tout son intérêt.

MÉCANISME DE LA PHAGOCYTOSE

Quels sont le *mécanisme* et la *nature* de la phagocytose? Afin de répondre à ces deux questions dans la mesure du possible, il convient de comparer le résultat des expériences *in vitro* et l'ensemble des faits que nous avons brièvement exposés. On sait de quel précieux secours sont les recherches *in vitro*, pour la genèse et le contrôle des découvertes, mais on n'ignore pas qu'elles doivent être interprétées prudemment. Il va sans dire que, plus leurs conditions et leurs conséquences se rapprochent de celles des recherches *in vivo*, plus leur valeur s'accroît.

Mouvements des phagocytes libres.

D'abord, qu'avons-nous appris sur les mouvements « spontanés » et « dirigés » des phagocytes libres, par l'examen hors de l'organisme? Les observations directes des Auteurs ont fourni de nombreux documents, dont on trouvera le détail partout; les études cinématographiques de Comandon sont encore supérieures comme intérêt, étant données l'élégance et la précision de la nouvelle méthode. En ce qui concerne les mouvements « spontanés », ils n'ont de volontaire que l'apparence; ils représentent de simples réactions, envers des causes souvent visibles (contact de corps solides), présumables ailleurs avec vraisemblance (actions chimiques). La reptation caractéristique, qui les résume, reconnaît évidemment pour motif une différence de tension superficielle entre la partie étalée de la cellule et le reste.

De même pour la diapédèse, où l'on note la dissemblance typique d'aspect que montrent la portion intravasculaire, globuleuse, du leucocyte « engagé » et son segment externe, irrégulier. Nous savons que, dans l'inflammation, l'ectasie des capillaires traduit l'action directe, sur eux, des corps irritants et qu'elle entraîne le ralentissement du flux sanguin, suivi de l'accumulation des globules blancs contre l'endothélium des vaisseaux. Celui-ci se trouve modifié dans ses propriétés par la stase; la traversée des globules représente la conséquence (encore mal expliquée) de l'altération endothéliale. Il nous semble vraiment impossible d'admettre une « attraction » des éléments mobiles au travers des capillaires; mieux vaut avouer que le sujet reste obscur.

Les mouvements « spontanés » des leucocytes (entre lame et lamelle) s'effectuent sans ordre ; leur vitesse augmente, avec la température, jusqu'à une certaine limite, suivant la loi de van't Hoff-Arrhenius (Comandon). — Les mouvements « dirigés » sont ceux qui conduisent droit les phagocytes libres vers les particules qu'ils vont s'incorporer ou entourer. Voici, d'après Comandon, la façon dont se comportent les leucocytes d'animaux divers (entre lame et lamelle), quand on place de la poudre d'amidon dans la préparation qui les contient. Les globules se dirigent vers l'amidon (la vitesse continuant à n'être fonction que de la température) et finissent par l'atteindre. Ils s'étalent, ensuite, contre les grains et, si ces derniers offrent des fissures, les débitent en petits blocs qu'ils englobent. Lorsqu'il s'agit de particules volumineuses, les leucocytes s'accumulent autour d'elles, formant ainsi des sortes d' « abcès » *in vitro*. Au bout de quelques heures, les globules blancs, altérés, ne réagissent plus et les « abcès » se désagrègent. Cependant, même morts, les leucocytes adhèrent encore à l'amidon. Comment se représenter les mouvements « dirigés » ? On admet, habituellement, que les particules en jeu laissent diffuser des substances qui modifient la tension superficielle des phagocytes libres. — Ce sont toujours des changements de cette tension qui font sortir la cellule mobile de son état (sphérique) de repos, déterminant l'apparition de pseudopodes caractéristiques. Ces changements reconnaissent des raisons variées, surtout les contacts et les actions chimiques (mais pas toutes). Lorsqu'une cause (de nature et de direction constantes) domine nettement, c'est le mouvement rectiligne ; lorsqu'il s'agit de petites causes, sans cesse changeantes (dans leur nature et dans leur direction), c'est le mouvement « spontané », dont les zigzags défient nos descriptions ; rappelons encore que la vitesse des deux mouvements se montre identique, pour des températures égales.

Le déplacement des leucocytes est, savons-nous, entravé par les anesthésiques, qui, concentrés, coagulent le protoplasma ; de même, quant à la phagocytose. Celle-ci se trouve cependant favorisée par de faibles quantités de poison, lesquelles, suivant Hamburger, diminuent la tension superficielle, en se dissolvant dans les lipoïdes externes de la cellule.

Abordons, maintenant, le problème de la phagocytose proprement dite. Elle comprend trois actes : le contact adhésif, l'englobement et la digestion.

Contact adhésif.

Le contact (accolement, attachement), transitoire et pour ce motif méconnu *in vivo*, peut être facilement mis en évidence *in vitro*, comme l'a établi, le premier, Sawtchenko, lorsque l'on retarde ou empêche l'englobement. Déterminons (ainsi qu'il le fait), chez deux cobayes, un exsudat leucocytaire, par injection intrapéritonéale de bouillon (additionné d'aleurone). Après dix-huit heures, introduisons, dans l'abdomen du *premier* animal, des hématies ovines « sensibilisées » (soumises à l'action d'un sérum « antimouton » de lapin, puis débarrassées de ce sérum et émulsionnées avec de l'eau physiologique); passé quelques minutes, l'exsudat, prélevé, montre de nombreux globules rouges au sein des phagocytes, très peu contre leur surface. Après le même temps, saignons complètement le *second* cobaye et refroidissons-le soixante minutes dans la neige. Puis, ouvrons le ventre, introduisons, comme précédemment, des hématies ovines « sensibilisées » et mélangeons-les intimement à l'exsudat ; passé quelques minutes, le pourtour des leucocytes (mono- et polynucléaires), que le froid immobilise, est recouvert de globules rouges, dont le nombre s'accroît continuellement. Signalons d'autres résultats de Sawtchenko sur cet attachement, que Ledingham avait déjà noté. Le phénomène se produit avec les leucocytes lavés, mais il reste moins marqué et n'intéresse que les mononucléaires. On constate, sans peine, l'accolement, avec les leucocytes tués par la chaleur (50° — une heure), dont le protoplasma, rigide, ne saurait rien s'incorporer. Mêmes résultats généraux, quand on remplace les hématies par des vibrions (« sensibilisés »). Enfin, le complément jouerait un rôle essentiel (opinion habituellement contestée aujourd'hui). Suivant l'auteur, l'attachement, comme l'agglutination, reconnaît pour cause une attraction, qui nécessite la présence d'électrolytes. Cette attraction, capitale dans la phagocytose, intervient seule toutes les fois qu'il n'existe aucun mouvement « dirigé » des cellules mobiles : cas

des particules de charbon, entre autres — et toutes les fois qu'il s'agit de phagocytes fixes : cas des injections intravasculaires de poudres et de bactéries (soit avirulentes, soit virulentes mais « sensibilisées »), qu'engloberont les endothéliums hépatiques et spléniques. Un élève de Sawtchenko, Barikine, réalise l'accolement des hématies (mêlées au sérum spécifique chauffé — donc sans complément) sur les leucocytes adhérents à des plaques de verre, même après chauffage de ces éléments, rendus artificiellement fixes. Levaditi et Mutermilch décrivent l'attachement des trypanosomes (mêlés au sérum spécifique), que les globules blancs soient vivants ou non. Nous avons vu, précédemment, que ces globules morts ne se détachent pas des grains amylacés (Comandon). Que faut-il conclure de tout cela, pour le mécanisme de la phagocytose *in vivo?* Dans certains cas, les leucocytes vont vers les particules; ailleurs, ils ne les rencontrent que par hasard (chez les phacocytes fixes, la rencontre est naturellement toujours fortuite); l'effet constant et indispensable reste bien le contact adhésif, comparable à l'agglutination. Mais ce phénomène, trop éphémère, demeure généralement inaperçu; il faut opérer *in vitro*, dans des conditions spéciales, pour le déceler (on « allonge » alors le temps, ainsi que faisait Galilée avec le plan incliné); il serait indiqué, ici encore, d'employer la cinématographie comme moyen d'analyse.

Englobement.

Etudions le second acte de la phagocytose, l'incorporation. Selon Rhumbler, les amibes ingèrent la nourriture solide de deux manières différentes. Tantôt, on observe l'*englobement proprement dit* : autour de la particule, le protoplasma s'élève circulairement, la dépasse et l'aliment est ainsi emprisonné ; tantôt, c'est la *pénétration simple* : la particule s'enfonce progressivement, la substance amibienne « cède » et l'aliment gagne l'intérieur de la cellule ; dans les deux cas, la tension superficielle diminue au niveau du corps étranger, parce que la surface du protiste « mouille » celui-ci. Voici, maintenant, comment se comportent les phagocytes des métazoaires. Les uns sont dénués de mobilité (même partielle), ce qui ne les empêche pas de s'incorporer les poudres et bactéries, par le

second des mécanismes indiqués; tels, certains éléments libres et tous les éléments fixes. Les autres, leucocytes types, susceptibles de montrer l'englobement proprement dit, le réalisent ou non, suivant les circonstances. *In vivo*, on voit les hématies, les trypanosomes... captés d'après le schéma courant; pour les bactéries, la pénétration simple semble très fréquente, mais le sujet appelle de nouvelles recherches. *In vitro*, à la température du corps, les globules blancs s'étalent sur les grains d'amidon et de charbon, puis les enrobent (Comandon); ils s'incorporent également les hématies « sensibilisées », de la façon classique (pour les bactéries, on ne sait guère) — à température peu élevée, les hématies s'enfoncent simplement dans les phagocytes (à 37°, lors d'agitation continue, les bactéries se conduisent pareillement) — enfin, à température réellement basse (ou chez les leucocytes morts), le phénomène reste impossible. Il semble hors de doute que, pour un même objet, les deux modes d'incorporation dépendent essentiellement de la viscosité du protoplasma en jeu; lorsque celle-ci est faible, ce protoplasma s'élève facilement sur le corps étranger; lorsqu'elle s'accroît, il ne peut que se laisser pénétrer; quand elle dépasse une limite donnée, il devient infranchissable.

Nous croyons inutile de développer davantage l'histoire de l'englobement; rappelons seulement qu'il suppose des particules plus petites que les phagocytes; sinon, les éléments libres entourent l'objet introduit et l'on peut rencontrer alors tous les intermédiaires entre les cellules géantes (par fusion) et le sac leucocytaire d'enkystement.

Digestion.

Reste la digestion (éventuelle) des objets enrobés. On la connaît depuis longtemps, chez les amibes, où ces corps se trouvent dissous au sein de vacuoles appelées, conséquemment, digestives. Chez les phagocytes des métazoaires, même phénomène.

On peut extraire, des globules blancs (normaux ou pathologiques), divers enzymes. Les plus intéressants, pour nous, sont ceux qui modifient les matières ternaires et, surtout, les pro-

téiques. Les « protéases » varient selon le type de leucocytes et l'espèce animale. Opie distingue un ferment agissant en milieu acide (fourni par les mononucléaires) et un ferment agissant en milieu alcalin (sécrété par les polynucléaires); Jochmann décrit une érepsine; tous les auteurs constatent le pouvoir dit antitryptique des sérums (pouvoir dont l'intensité diffère suivant les animaux et qui semble lié à la fraction-albumine de ces sérums, d'après Opie).

On attribue la fonte purulente des exsudats à l'autolyse des cellules blanches nécrosées, explication admissible (mais non unique), quand le microbe pyogène ne produit aucune diastase protéolytique. Il convient de noter que, dans l'histoire des plaies de guerre, le rôle des ferments dont nous parlons et que libèrent, croit-on, les leucocytes morts, change de nature avec l'époque des accidents; d'abord, ce rôle apparaît favorable, puisqu'en dissolvant les tissus altérés les enzymes contribuent au « nettoyage » du foyer; plus tard, il devient nuisible, puisqu'en attaquant les bourgeons charnus ils retardent la réparation de la perte de substance (Policard).

La concordance entre les données chimiques (quelque peu superficielles) et l'examen histologique est, somme toute, satisfaisante. Ce dernier examen nous montre, on le sait, les cellules et microbes, englobés, se désintégrant progressivement, prenant des colorations anormales puis demeurant incolores, s'évanouissant enfin, sauf certains résidus caractéristiques (grains de pigment). Les cellules animales, les levures, les spores... sont surtout prises par les mononucléaires; les bactéries, surtout par les polynucléaires, dans les affections aiguës. Dans les affections chroniques, les mononucléaires, agents de réaction tardive, contiennent souvent seuls les parasites.

Notre travail, déjà cité, indique comment on doit concevoir la disparition des antigènes, *quels qu'ils soient*, supposés *extracellulaires*. Nous inspirant des recherches classiques et des nôtres, nous avons été amenés au schéma suivant : les antigènes et les anticorps se fixent les uns sur les autres; les compléments disséminent les micelles antigène-anticorps, ainsi formées, les séparant entre elles et les isolant du reste des cellules ou humeurs; après cette dislocation, les enzymes protéolytiques ambiants accomplissent leur œuvre. La disparition des antigènes *figurés*, *au sein des cellules*, ne reconnaît certainement pas un mécanisme différent; ces antigènes, « chargés » d'anticorps puis de complément dans le plasma, sont enrobés

par les phagocytes, dont le pouvoir digestif l'emporte de beaucoup sur celui des humeurs. — Rappelons encore que l'englobement n'est point fatalement suivi de l'attaque des microbes incorporés. Loin de là; les germes se multiplient souvent aux dépens des phagocytes, les tuent et, alors, mènent la vie libre ou sont de nouveau enrobés. Après plusieurs englobements successifs, ils ont fréquemment « le dessous », lors d'infections aiguës; mais, lors de maladies chroniques, l'existence intracellulaire des parasites peut se continuer indéfiniment, affectant parfois les allures de la symbiose, ainsi que nous le disions précédemment.

NATURE DE LA PHAGOCYTOSE

Quelle est la *nature* de la phagocytose? Depuis que l'on sait que le phénomène du contact adhésif constitue ici le point essentiel, on la classe parmi les actes « associatifs », près de l'agglutination; elle représente, somme toute, une agglutination « hétérologue ». Or, l'agglutination « homologue » ou agglutination proprement dite comprend, entre autres modalités, les trois types suivants : réunion « spontanée » de cellules identiques; réunion, sous l'influence des sérums normaux; réunion, sous l'influence des sérums « anti ». De même, on reconnaît (*in vitro*) : la phagocytose spontanée, la phagocytose par les sérums normaux, la phagocytose par les sérums spécifiques. Homologue ou hétérologue, l'agglutination devient fatale, quand les éléments, susceptibles de confluer, cessent, pour des raisons variées, de se trouver en équilibre avec le milieu ambiant.

La *phagocytose spontanée* apparaît, chez les amibes, lorsqu'elles prennent une nourriture solide. On la réalise, artificiellement, chez les leucocytes lavés, suspendus dans l'eau physiologique et auxquels on fait ingérer, *in vitro*, des particules diverses. Ce qui nous intéresse surtout, ce sont les expériences d'englobement des microbes, dont on doit les premières à Bordet. Malheureusement, elles n'ont pas fourni, jusqu'ici, de données bien précises. On se trouve, d'ailleurs, assez loin de l'« *in vivo* ».

Examinons l'autre cas extrême, la *phagocytose que provoquent les anticorps spécifiques*, phénomène découvert par Denys et Leclef (1895). Ces auteurs, étudiant, parallèlement, le sérum de lapins neufs et de lapins vaccinés contre le streptocoque, notèrent que le second n'était point plus bactéricide que le premier *in vitro*, mais qu'il y déterminait, seul, la phagocytose. Mennes fit les mêmes remarques, pour le sérum des sujets immunisés vis-à-vis du pneumocoque. Les recherches de Neufeld et Rimpau confirmèrent les deux ordres de travaux qui précédent. On se rappelle les études, si intéressantes, de Sawtchenko sur les hématies et les vibrions. Inutile de multiplier les citations; voici, brièvement, ce que l'on peut dire aujourd'hui. Etant donnés un germe et le sérum « anti » correspondant, les leucocytes des divers animaux s'équivalent pratiquement (on emploiera, toutefois, cela va de soi, les globules de la même espèce, pour chaque groupe d'expériences). Les anticorps agissent sur les parasites et non sur les cellules phagocytaires, ainsi qu'il est très facile de le démontrer directement. Les leucocytes des sujets immunisés contre le microbe étudié ne se révèlent pas plus actifs que ceux des individus neufs, la soi-disant accoutumance de ces éléments, pendant la vaccination, constitue une hypothèse sans fondement. Donc, l'étude *in vitro* explique très convenablement les observations *in vivo*. Notons, cependant, que le complément, qui intervient automatiquement dans l'économie, ne constitue pas un facteur indispensable à l'englobement hors de l'organisme, selon la majorité des auteurs.

Une question se présente ici, tout naturellement. Quand on immunise (et surtout hyperimmunise) les animaux contre les microbes, on suit, par l'examen de leur sérum, le développement de la résistance (active) de ces animaux et de la résistance (passive) que ce sérum peut conférer aux individus de même espèce ou d'espèce différente. Pour cela, tantôt on recherche l'effet *in vivo* et l'on conclut, de l'action préventive dans l'infection expérimentale, à l'action curative dans la maladie naturelle (le plus souvent d'une autre espèce); les avantages et les défauts du procédé sont évidents — tantôt, on s'efforce de titrer les anticorps *in vitro*; nous avons démontré, ailleurs, que l'évaluation du pouvoir agglutinant et précipitant du sérum ne

comportait aucune signification précise; il faut donc étudier soit la faculté bactéricide, ressource limitée en ses applications et délicate d'emploi, soit la propriété de fixer le complément (technique Bordet-Gengou), moyen excellent et plus général. Il est évident que, si l'on interroge la phagocytose provoquée (*in vitro*), on se tiendra assez exactement entre les deux manières de faire. Plusieurs auteurs ont tenté de répondre à ce desideratum, mais il faut avouer que les méthodes préconisées demeurent encore trop compliquées pour la pratique.

Reste à envisager la *phagocytose, sous l'influence des sérums normaux.* Wright et Douglas ont constaté que les globules blancs humains, en présence de sérum humain, captent divers microbes. On a ensuite étendu cette observation aux sérums et leucocytes d'espèces très variées. Les substances actives des humeurs normales se fixent sur les bactéries, comme les anticorps spécifiques (Bulloch et Atkin) et les germes, ainsi « sensibilisés », se trouvent alors englobés. Ces substances actives, étant souvent médiocrement résistantes au regard de la température, certains auteurs concluent qu'elles représentent de simples compléments. Rien de plus facile que de réfuter une pareille conception. Les anticorps naturels se montrent fragiles, parce que leur concentration est faible; les anticorps artificiels fléchissent pareillement, si on les dilue (Wright). D'ailleurs, la « thermolabilité » des anticorps normaux a été certainement exagérée; elle fait même, éventuellement, défaut. N'oublions pas, enfin, que les compléments ne se fixent, sur les antigènes, que par l'intermédiaire des anticorps et *jamais directement.* Il suffit, du reste, d'une trace de ces derniers; ainsi, nous avons noté, jadis, que $0,5.10^{-18}$ cent. cube d'un sérum antivibrionien (de cheval) permettait, sans difficulté, l'action bactéricide (partant, la fixation) de 2.10^{-2} cent. cube d'un sérum normal frais (de cobaye). — L'influence de la virulence, sur l'englobement *in vitro* des divers germes, en présence des sérums normaux (et « anti »), n'est pas encore connue avec netteté.

Il faut donc imaginer, dans la phagocytose, certains rapports (lesquels?) entre l'élément englobant et la particule englobée, d'où résulte la rupture d'équilibre indiquée précédemment. *In*

vivo, ce sont évidemment les anticorps qui « déclenchent » tout. Lorsque leur concentration est notable et qu'il s'agit d'antigènes « très solubles », la destruction hors des cellules s'ajoute à la phagocytose et peut même la remplacer plus ou moins complètement ; si cette destruction prend une importance suffisante, on voit apparaître les signes connus d'hypersensibilité, lesquels revêtent volontiers, cliniquement, l'allure de la crise des Anciens. Mais, d'habitude, avons nous-dit, la résistance (cas des microbes) se traduit par l'englobement des parasites, dont une quantité, variable, sont captés vivants (bien que « sensibilisés »). Dans l'immunité (et surtout l'hyperimmunité) acquise, l'intensité de la phagocytose marche de pair avec l'abondance des anticorps, fréquemment décelables. Pour l'immunité naturelle, voici ce que l'on peut dire. Il existe des anticorps normaux, capables de produire l'englobement des germes; rien de plus sûr, mais les relations entre leur qualité et leur quantité d'une part, la nature et l'intensité de l'état réfractaire d'autre part, n'apparaissent point encore avec exactitude. Le raccord des expériences *in vitro* et des observations *in vivo* nécessitera l'élaboration de nouvelles techniques. Celles-ci devront être simples, rapides et bien comparables, afin de permettre des recherches très nombreuses et suffisamment précises. On saura, alors, jusqu'à quel point la phagocytose, hors de l'organisme, renseigne sur la résistance des animaux et, du même coup, sur la virulence des germes. Nous nous efforçons, actuellement, de trouver de telles méthodes, convaincus de l'importance des résultats qu'elles fourniront dans la solution des deux problèmes précédents et, aussi, dans le titrage des sérums antimicrobiens.

LA RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT DANS LE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

par L. PANISSET, professeur
et Jean VERGE, chef de travaux à l'École d'Alfort.

La réaction de fixation (réaction de déviation du complément ou méthode de Bordet-Gengou) a été relativement peu utilisée dans le diagnostic de la tuberculose chez nos diverses espèces domestiques.

Nous l'avons expérimentée dans la recherche de la tuberculose, bovine ou canine, et de l'entérite chronique hypertrophiante des bovidés. C'est le résultat de ces essais que nous relatons ici.

Nous dirons d'abord la technique que nous avons suivie, les résultats obtenus en matière de tuberculose et de diarrhée chronique; l'influence qu'exercent les injections de tuberculine sur la production des anticorps spécifiques. Nous terminerons par quelques considérations sur la nature de la réaction à la tuberculine et le mécanisme de la méthode de Bordet-Gengou.

I. — Technique.

Nous avons adopté uniformément la technique de Calmette et Massol : doses croissantes d'alexine (sérum de cobaye) diluée au quinzième, en présence de quantités fixes d'antigène et du sérum à étudier suivant le schéma suivant.

Les divers éléments de la réaction étaient toujours ajoutés selon l'ordre exposé dans ce tableau. Le sérum hémolytique consistait en sérum de cheval antimouton.

Nous avons le plus fréquemment opéré avec l'antigène tuberculeux de Boquet et Nègre (extrait à l'alcool méthylique de bacilles de Koch après traitement acétonique). Mais de

nombreuses réactions furent exécutées parallèlement au moyen de l'antigène à l'œuf de Besredka, suivant un thème analogue au tableau précédent. En ce cas, seules différaient : la dose d'antigène à mettre en présence du sérum à étudier (0 c. c. 3 d'antigène de Besredka); la quantité d'eau physiologique

	I 1 heure a l'étuve a 37°				II 1/2 h. a l'étuve a 37°	
	Alexine diluée à 1/15 Dose minima active : 0 c. c. 1	Sérum suspect chauffé	Antigène Boquet et Nègre dilué à 1/20	Eau physiologique	Globules de mouton (en gouttes)	Sérum hémolytique chauffé (en gouttes)
	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.		
1	0,1	0,3	1	1,1	I	I
2	0,2	0,3	1	1	I	I
3	0,3	0,3	1	0,9	I	I
4	0,4	0,3	1	0,8	I	I
5	0,5	0,3	1	0,7	I	I
6	0,6	0,3	1	0,6	I	I
7 } Tubes témoins du sérum	0,1	0,3	—	2,1	I	I
8 } Tubes témoins du sérum	0,2	0,3	—	2	I	I
9 } Tubes témoins du sérum	0,3	0,3	—	1,9	I	I
10 } Tubes témoins de l'antigène	0,1	—	1	1,4	I	I
11 } Tubes témoins de l'antigène	0,2	—	1	1,3	I	I
12 } Tubes témoins de l'antigène	0,3	—	1	1,2	I	I
13 } Tubes témoins de l'antigène	0,4	—	1	1,1	I	I

nécessaire pour compléter chaque tube à un volume uniforme de 2 c. c. 5.

L'alexine était toujours titrée au préalable : la dose minima active fut, le plus souvent, de 0 c. c. 1.

Le titrage des sensibilisatrices des sérums de bovidés tuberculeux fut effectué selon la technique de Calmette et Massol (1). Si un volume V du sérum étudié dévie N doses minima d'alexine, le rapport $\frac{N}{V}$ représente le nombre de doses minima

(1) On trouvera ces techniques exposées de façon très claire dans le livre d'Armand-Delille et Nègre : *Technique de la réaction de déviation du complément.*

d'alexine que dévie 1 cent. cube de sérum. Ce moyen permet la comparaison des divers sérums entre eux et l'évaluation de leur richesse en anticorps spécifiques. Nous reviendrons plus loin sur ce point.

L'emploi simultané de l'antigène de Boquet et Nègre et de l'antigène de Besredka nous a permis de comparer leur valeur respective en présence d'un même sérum bovin, tuberculeux ou non. Nos essais, poursuivis comme l'indique le tableau ci-dessous sur 10 sérums de bovidés infectés et sur 10 sérums de bovidés sains, sur 1 sérum de chien bacillisé et sur 3 sérums de chiens normaux, corroborent les données antérieures de Moser en la matière. Il y a concordance presque absolue entre les résultats fournis par les deux antigènes; peut-être la balance pencherait-elle légèrement en faveur de l'antigène méthylique qui s'est montré un peu plus sensible?

SÉRUMS TUBERCULEUX	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	CHIENS tuberculeux
Réaction de fixation avec l'antigène Boquet et Nègre	++	++	+++	—	+	++	+	++	+	++	+++++
Réaction de fixation avec l'antigène de Besredka	++	++	++	—	++	++	—	++	+	++	++++

SÉRUMS SAINS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	CHIENS SAINS		
											1	2	3
Réaction de fixation avec l'antigène Boquet et Nègre	—	++	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
Réaction de fixation avec l'antigène de Besredka	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—

Cependant, chez une vache non réagissante à la tuberculine et cliniquement indemne, la réaction de fixation — positive avec l'antigène de Boquet et Nègre — resta négative avec celui de Besredka.

Par contre, sur un jeune bœuf qui avait donné une intradermo-réaction typique, la déviation du complément fut positive avec l'antigène Boquet et Nègre et négative avec l'antigène de Besredka.

En résumé, nous concluons à une sensibilité apparemment égale des deux préparations, un peu plus marquée peut-être en ce qui concerne l'extrait alcoolo-acétonique.

La plupart des sérums bovins que nous avons examinés provenaient de sangs récoltés aussitôt après l'abatage, après constatation de lésions de tuberculose sur les différents organes. Le sérum, décanté aseptiquement, était utilisé dans les quarante-huit heures qui suivaient le prélèvement.

Avant de pratiquer la réaction de fixation, nos sérums furent toujours inactivés par chauffage d'une demi-heure à 60°. Non seulement l'alexine est, par ce moyen, totalement détruite, mais encore le pouvoir anticomplémentaire spontané de certains sérums de bovidés disparaît ainsi presque entièrement. Or ce pouvoir anticomplémentaire — parfois très marqué et que l'on rencontre aussi bien chez des sujets sains qu'en des organismes infectés — constitue une source importante d'erreurs ou, du moins, de difficultés dans l'interprétation des résultats de la réaction de fixation.

D'où vient, en effet, que certains sérums, sans que l'on sache pourquoi, fixent l'alexine en dehors de tout antigène tuberculeux ? La réaction apparaît alors positive dans les tubes témoins : absence complète d'hémolyse après addition des hématies sensibilisées. Il est nécessaire de modifier légèrement les dispositions générales de la méthode pour les sérums fortement anticomplémentaires, surtout quand l'alexine est peu active.

Différents moyens peuvent être utilisés pour éviter les erreurs d'interprétation et les conclusions erronées :

1° Ou bien on laissera les tubes, à leur sortie de l'étuve, une heure à la température du laboratoire et on lira les résultats après ce délai seulement ;

2° Ou bien on portera, pour chaque réaction, le nombre de tubes témoins sérum à 6;

3° Ou bien on ajoutera un excès de sérum hémolytique. Dans quelques cas, nous avons employé II gouttes du sérum hémolytique de cheval antimouton, au lieu d'une seule goutte. Mais la réaction perd ainsi en sensibilité ce qu'elle gagne en netteté;

4° On chauffera les sérums à étudier, non plus à 56° ou à 58°, mais à 60° pendant trente minutes. Cela constitue le meilleur procédé de destruction du pouvoir anticomplémentaire spontané.

Depuis que nous avons adopté cette dernière solution, nos réactions ont toujours été facilement appréciables. Cependant, en quelques cas très rares, nous avons vu la qualité fixatrice spontanée de certains sérums résister au chauffage à 60°; alors — comme l'indique Rubinstein — on pourra toujours interpréter les résultats de la réaction de fixation à partir de la dose d'alexine supérieure à celle qui a été déviée par le sérum seul.

Le chauffage des sérums présente toutefois un inconvénient : les sérums peuvent coaguler et leur obtention est ainsi rendue impossible. Mais cet ennui demeure léger au regard des multiples avantages que vaut leur inactivation à une température relativement élevée.

D'où proviennent les facteurs capables d'empêcher l'hémolyse des globules sensibilisées? Pourquoi certains sérums fixent-ils l'alexine en l'absence de tout antigène? On ne saurait dire, avec quelques auteurs allemands (Wassermann, Citron, etc.), que c'est à la présence simultanée d'antigène et d'anticorps dans les sérums que ceux-ci doivent leur pouvoir anticomplémentaire spontané — puisque ce pouvoir se manifeste également chez des sérums de bovidés non infectés.

Il est probable que, sous diverses influences non élucidées, quelques sérums acquièrent la particularité très spéciale de fixer le complément en présence d'un antigène tuberculeux. Les substances protéiques de ces sérums doivent se comporter comme le complexe antigène-anticorps : il suffit peut-être, pour réaliser cette analogie, d'un équilibre colloïdal spécial, que nous ne savons encore déterminer?

Une autre cause d'erreur, dans la réaction de fixation, naît du fait que quelques sérums de bovidés sains donnent des résultats positifs avec l'antigène tuberculeux. En d'autres termes, un sérum normal se comporterait comme s'il renfermait des anticorps spécifiques.

L'exemple suivant est particulièrement typique à cet égard : une vache, en parfaite santé, mais atteinte de verrues, n'ayant jamais réagi à la tuberculine, nous a donné à quatre reprises différentes des réactions positives fort nettes par la méthode de Bordet-Gengou.

A l'autopsie, aucune lésion ganglionnaire (apparente ou occulte), aucune lésion viscérale ne put être décelée. Un cobaye, inoculé avec le produit de broyage des ganglions trachéo-bronchiques, n'a jamais rien présenté d'anormal.

Comment interpréter pareil phénomène ? Nous pensons qu'il peut s'expliquer par la présence, dans le sérum de ce sujet, *d'anticorps normaux*, capables de se fixer sur l'antigène et d'adsorber ainsi tout ou partie de l'alexine, à la faveur de la constitution du complexe antigène-anticorps. Peut-être s'agit-il seulement de bacillisations sommeillantes ou de lésions telles que, seule, une autopsie d'une minutie sévère serait capable de mettre en évidence?

Nous ne dirons rien des substances inhibitrices contenues en quelques sérums. Si des bovidés notoirement tuberculeux (contrôle nécropsique) donnent parfois des réactions de fixation négatives, est-ce à dire que leurs sérums renferment l'inhibitrice, si parfaitement étudiée par le professeur Calmette ? Nous n'osons formuler d'opinion à cet égard.

En résumé, dans l'étude des réactions de fixation, on ne confondra pas :

1° Le pouvoir anticomplémentaire spontané, lequel — antagoniste de l'hémolyse — masque celle-ci dans les tubes témoins du sérum ;

2° Le pouvoir de fixer le complément, apanage de certains sérums normaux, qui se comportent alors comme des sérums tuberculeux ;

3° Le pouvoir inhibiteur (très rare lorsqu'il ne s'agit pas de sujets hypervaccinés), grâce auquel des sérums tuberculeux se

révèlent comme des sérums normaux, ne renfermant pas d'anticorps spécifiques.

Les sérums à étudier ne furent pas toujours examinés dans les quarante-huit heures de leur récolte. Aussi avons-nous voulu, pour éliminer toutes causes d'erreur, nous assurer de l'influence qu'exerçait, sur la réaction de fixation, le vieillissement des divers sérums, tuberculeux ou non, à la glacière.

Nous n'avons pas observé — comme on s'en rendra compte par le tableau ci-dessous — que l'intensité de la déviation du complément soit changée dans un sens quelconque (augmentée ou diminuée), du fait du séjour de nos 16 sérums bovins (9 sains, 7 tuberculeux) à la glacière.

En particulier 2 sérums qui renfermaient, l'un 7 unités d'anticorps, l'autre 10 unités, ont conservé le même titre après un séjour respectif de vingt et un et quinze jours au frigorifique.

ANIMAL	PREMIÈRE RÉACTION DE FIXATION	DEUXIÈME RÉACTION DE FIXATION avec même sérum que la première, mais conservé en glacière	TEMPS ÉCOULÉ entre les deux réactions de fixation
Sain	—	—	7 jours.
—	—	—	7 —
—	—	—	2 —
—	—	—	2 —
—	—	—	2 —
—	—	—	7 —
—	—	—	2 —
—	—	—	9 —
—	—	—	15 —
Tuberculeux . .	+ +	+ +	7 —
— . .	+ +	+ +	2 —
— . .	+ + + +	+ + + +	9 —
— . .	+ + + + + +	+ + + + + +	8 —
— . .	+ +	+ +	8 —
— . .	7 unités d'anticorps.	7 unités d'anticorps.	21 —
— . .	10 — —	10 — —	15 —

Donc la conservation des sérums à la glacière, dans un délai qui peut aller de deux à vingt et un jours, n'altère pas leur

richesse en anticorps spécifiques. De plus, leur pouvoir anticomplémentaire ne semble subir aucun changement de ce fait.

II. — Réaction de fixation et Tuberculose bovine.

La méthode de Bordet-Gengou a été appliquée au diagnostic de la tuberculose des bovidés depuis une quinzaine d'années. C'est seulement à partir du jour où Calmette et Massol, Besredka, Boquet et Nègre nous ont dotés d'antigènes sensibles que les indications de la technique se sont précisées et que la méthode a acquis une incontestable valeur.

En 1909, Hennepe et Jousset — cités par Hruska et Pfenninger — examinant les sérums de veaux vaccinés avec du tauruman, du bovo-vaccin et des bacilles humains, constatèrent la présence d'anticorps fixant le complément en présence des antigènes correspondants.

En 1910, Ruppel et Rickman d'une part, Weber et Dieterlen d'autre part, apportent leur contribution — aux conclusions un peu divergentes — à l'étude de la valeur et de la spécificité de la déviation du complément.

Bach ne se révèle pas partisan du procédé, qu'il déclare impropre au diagnostic. Hammer obtient de meilleurs résultats au cours de ses recherches.

En 1920, Borrel et Boëz (1) montrent que 20 sérums de bovidés tuberculeux donnent 16 réactions positives et 4 négatives, alors que, sur 50 sérums de bovidés sains, 47 ne fixent pas le complément en présence de l'antigène spécifique.

Enfin, tout récemment (1921), Hruska et Pfenninger (2), étudiant, au moyen de l'antigène à l'œuf de Besredka, 90 sérums d'animaux sains et 304 sérums de sujets tuberculeux à tous les degrés de la maladie, concluent ainsi : chez les bovidés infectés, la méthode donne 84,5 p. 100 de résultats positifs alors que le pourcentage de réactions positives est seulement de 2,2 chez les bovidés macroscopiquement sains.

De plus, selon ces auteurs, les résultats fournis par la réac-

(1) Borrel et Boëz. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1920, p. 1130.

(2) Hruska et Pfenninger, Le diagnostic de la tuberculose chez les bovidés au moyen de l'antigène de Besredka. Ces *Annales*, 1921, p. 96.

tion de fixation sont intimement liés à l'étendue des lésions constatées à l'autopsie :

Les bovidés atteints d'une tuberculose très peu avancée (tuberculose ganglionnaire) donnent une réaction positive dans 30 p. 100 des cas ;

Ceux qui présentent des lésions plus étendues (tuberculose pulmonaire, pleurale, péritonéale, viscérale) réagissent positivement dans 84,95 p. 100 des cas ;

Enfin les animaux atteints de tuberculose généralisée, mais jouissant d'un bon état général, donnent une réaction positive dans 100 p. 100 des cas.

Nos essais, moins étendus que les précédents, ont porté sur 148 sérums de bovidés tuberculeux ; 1 sérum de chien atteint d'ostéo-arthropathie hypertrophiante ; 63 sérums de bovidés sains ; 3 sérums de chiens normaux.

Parmi les 148 bovidés tuberculeux, 126 furent autopsiés et la tuberculose reconnue ainsi à l'examen anatomo-pathologique du cadavre ; les 22 autres sujets réagissaient à la tuberculine, injectée soit par voie sous-cutanée, soit dans le derme d'un pli sous-caudal.

Tous les bovidés sains furent systématiquement soumis à l'inoculation diagnostique de tuberculine. Un examen clinique complétait, chez les non-réagissants, les indications fournies par la tuberculination.

Le tableau représenté ci-dessous établit, de manière schématique, les résultats que nous avons obtenus :

	TOTAL	RÉACTIONS DE FIXATION		POURCENTAGE des réactions de fixation	
		positives	négatives	positives	négatives
Bovidés tuberculeux	148	134	14	90,5	9,4
Bovidés sains.	63	56	7	11,1	88,8
Chien tuberculeux	1	1	»	»	»
Chiens sains	3	»	3	»	»
Bovidés tuberculeux { autopsiés . .	126	114	12	90,4	9,5
Bovidés tuberculeux { réagissant à la tuberculine	22	20	2	90,9	9

Constatons simplement que le taux des bovidés tuberculeux qui — sans distinction de catégories, ni d'intensité de lésions — donnent une réaction de fixation positive est sensiblement plus élevé dans nos essais que le pourcentage indiqué par Borrel et Boëz (80 p. 100) ou par Hruska et Pfenninger (84,5 p. 100). Ces résultats tiennent-ils à une sensibilité plus exquise de l'antigène employé? Nous ne saurions l'affirmer, en l'absence d'autres éléments pour asseoir notre conviction.

Nous avons recherché l'origine des 14 animaux tuberculeux chez lesquels la déviation du complément se révéla négative. 12 ont présenté, à l'autopsie, des lésions certainement dues au bacille de Koch. Les 2 autres, maigres, en mauvais état, ont donné à la tuberculination sous-cutanée des réactions typiques; dans un cas, l'hyperthermie fut de 1°5; dans l'autre, de 1°9, avec chaque fois courbes en plateau; température du lendemain de l'injection dépassant 40°; tous signes qui font interpréter dans le sens positif une réaction tuberculinique.

A quoi tient ce phénomène, encore inexpliqué à l'heure actuelle. Nous nous rallions volontiers à l'opinion du professeur Calmette : « Un assez grand nombre de malades qui réagissent à l'injection de tuberculine par voie sous-cutanée n'ont pas d'anticorps dans leur sérum ». Un jour peut-être, un antigène encore plus sensible que ceux utilisés à l'heure actuelle parviendra-t-il à les déceler?

Quant aux 7 animaux sains (non réagissants à la tuberculine et indemnes de signes cliniques) qui ont donné une réaction de Bordet-Gengou positive, nous ne savons que penser à leur égard. Notons qu'ici encore nous sommes en désaccord avec les statistiques d'Hruska et Pfenninger (chez ces auteurs, 2,2 p. 100 de réactions positives sur des animaux sains macroscopiquement; dans nos recherches, 11,1 p. 100 de réactions positives sur des sujets n'ayant pas réagi à la tuberculine).

*
* *

Nous allons examiner maintenant : la valeur qu'il faut accorder à la méthode de déviation du complément tant au point de vue du diagnostic que du pronostic de la tuberculose

des bovidés ; les indications qui en découlent, quant à l'emploi du procédé.

Si l'on veut bien se reporter aux recherches de Borrel et Boëz, de Hruska et Pfenninger et aux nôtres, on constate que la réaction de fixation est positive dans 80 p. 100 (Borrel et Boëz), 85 p. 100 (Hruska et Pfenninger) et 90 p. 100 (Panisset, Verge et Grasset) des sérums de bovidés tuberculeux, tandis qu'elle est négative dans 94 p. 100 (Borrel et Boëz), 97 p. 100 (Hruska et Pfenninger), 89 p. 100 seulement (nos recherches) des sérums de bovidés sains.

Il semble donc qu'on puisse logiquement conclure, en présence de ces résultats concordants, à la spécificité étroite de la déviation du complément — avec quelques erreurs, inexplicables encore actuellement, mais probablement inhérentes à la perfection toute relative de nos moyens.

On ne peut, selon nous, être autorisé à conclure à la spécificité de la réaction de fixation dans la tuberculose des bovidés, uniquement parce que le taux des réactions positives, entre l'antigène tuberculeux d'une part et des anticorps des sérums à étudier d'autre part, est très élevé. Il faut autre chose : en particulier prouver que, dans les diverses affections qui peuvent se rapprocher cliniquement de la tuberculose, la méthode reste négative lorsqu'elle est pratiquée par les antigènes tuberculeux habituels.

Or, tout au moins en ce qui concerne les bovidés, il n'en est rien, comme nous le verrons plus loin à propos de nos recherches sur les sérums des bovidés atteints d'entérite chronique hypertrophiante. Chez l'homme, en matière de tuberculose, il en est de même. Rieux et Mlle Bass (1) montrent que quelques sérums syphilitiques (fournissant un Wasserman positif) et certains sérums de paludéens en activité donnent une déviation positive avec l'antigène de Besredka. Pour ces auteurs la réaction de fixation, tout en étant spécifique, est limitée.

Pour nous, elle est d'une spécificité relative dans la tuberculose des bovidés. Ce fait domine les indications de la méthode et permet d'en préciser l'emploi, tant au point de vue

(1) Rieux et Mlle Bass, Réaction de fixation (antigène de Besredka) et tuberculose. Ces *Annales*, 1921, p. 378.

du diagnostic que de la prophylaxie sanitaire, ainsi que nous le verrons plus loin.

Il est possible de préciser, par le titrage, la richesse des sérums de bovidés tuberculeux en anticorps spécifiques. Ces sérums ne sont jamais très riches en sensibilisatrice, ainsi que Calmette l'a indiqué.

Sur 36 sérums étudiés, nous observons que le nombre d'unités d'anticorps — mesurés selon la méthode décrite plus haut — varie de 4 à 30, comme le montre le tableau ci-dessous :

UNITÉS D'ANTICORPS	NOMBRE DE FOIS RENCONTRÉS
4	2 fois
5	3 —
7	6 —
8	1 —
10	14 —
14	1 —
15	1 —
16	1 —
20	6 —
30	1 —

Il est certain que ces chiffres peuvent et doivent être largement dépassés en certains cas : lorsque le sujet est à une phase avancée de l'infection; lorsque la tuberculose est généralisée; lorsque les animaux ont été récemment tuberculinés, surtout par voie sous-cutanée.

Dans la règle, la richesse en anticorps du sérum des bovidés infectés est faible : elle oscille entre 10 et 20 unités.

Y a-t-il une relation entre la richesse de ces sérums en anticorps spécifiques et l'intensité de la réaction tuberculinique? Nous le ne pensons pas, comme en fait foi le tableau suivant, qui vient corroborer les constatations de nombreux auteurs :

On peut se demander aussi s'il existe un rapport entre l'intensité de la réaction de fixation et l'étendue des lésions bacillaires des bovidés. Cela n'est pas douteux, d'après Hruska et Pfenninger et d'après nos propres constatations. Il y a un

RÉACTION DE FIXATION (1)	TUBERCULINATION	
	intradermo-réaction sous-caudale (1)	méthode sous-cutanée
++	++	»
+	+++	»
++	»	Réaction thermique : 1°5
4 unités d'anticorps.		
++	+++++	»
++++	++++	»
++++	+++	»
++++		
10 unités d'anticorps.	++	»
++	»	Réaction thermique : 1°9

(1) Le nombre de + est proportionnel à l'intensité de la réaction.

parallélisme indéniable entre la fréquence des résultats positifs et l'étendue du processus tuberculeux — que le tableau qui suit met en lumière :

ANIMAUX	NATURE DES LÉSIONS	INTENSITÉ DE LA RÉACTION DE FIXATION	
		Antigène Boquet et Nègre	Antigène Besredka
Vache.	Tuberculose généralisée.	++++	+++
—	Tuberculose des poumons, des séreuses pleurale et péritonéale, du poumon et du foie.	++++	»
Veau	Tuberculose généralisée (réalisée expérimentalement).	+++++	+++++
—	Id.	+++++	+++++
Vache.	Tuberculose des ganglions du poumon.	++	++
—	Id.	++	»
—	Réaction sous-caudale, pas de signes cliniques. Encore vivante.	+	++
—	Réaction à la tuberculination sous-cutanée. Maigreur, mauvais état général. Encore vivante.	++	++

Godlewski (1) aboutit à ces conclusions : que la proportion des anticorps est en rapport avec l'intensité de l'imprégnation tuberculeuse; qu'il est rare de constater une teneur assez élevée en anticorps chez des sujets cliniquement sains. Il semble en être de même chez les bovidés : les sujets, sans tuberculose « dûment constatée » qui réagissent seulement à la tuberculine, donnent des réactions décelant une faible teneur de leurs sérums en anticorps spécifiques. Et nous pouvons conclure avec Armand-Delille (2) : réaction de fixation et réaction tuberculinique n'ont pas la même signification chez les bovidés tuberculeux.

*
* *

Quelle valeur faut-il accorder à la méthode de Bordet-Gengou du point de vue du pronostic de la tuberculose des bovidés?

Les observations faites tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire laissent à penser que la réaction de fixation est d'autant plus nette qu'il s'agit d'un processus tuberculeux en activité ou de lésions en voie d'évolution.

Lorsqu'il s'agit de tuberculose localisée, la déviation du complément est moins facilement interprétable, moins étendue, moins manifeste que dans le cas de tuberculose généralisée.

Chez l'homme, de nombreux travaux (Besredka et Netter, Ichok, etc.) ont montré que la réaction de fixation est parfois en rapport avec la résistance de l'organisme. Lorsque l'affection est grave et tend vers une issue fatale, lorsque l'économie infectée ne réagit plus ou réagit mal contre le processus morbide, la séro-réaction devient souvent négative.

Dans les diverses espèces animales, des constatations identiques ont été faites. De même que, chez l'homme, la déviation du complément est négative lors de l'évolution rapide et cachectisante de la bacillose ou dans le cas d'un processus déjà fort avancé (Debains et Jupille), de même chez le cobaye tuberculeux la réaction de fixation, de positive, devient

(1) Godlewski. *Revue de Médecine*, 1922, n° 5.
(2) Armand-Delille. *Bulletin médical*, 1921, n° 44.

nulle dans les jours qui précèdent la mort (Fried et Moser).

Une vache, cliniquement tuberculeuse (maigreur et toux), ayant réagi nettement à l'intradermo-tuberculination, donna une réaction négative avec son sérum prélevé quelques jours avant la mort. Trois semaines auparavant, la réaction avait été, au contraire, nettement positive. Ces faits appellent, du reste, de plus amples vérifications.

III. — Réaction de fixation et tuberculose canine.

Nos essais, en matière de tuberculose des carnivores domestiques, sont trop peu avancés encore pour permettre des conclusions fermes; du moins méritent-ils qu'on s'y arrête, devant les défaillances nombreuses des méthodes du diagnostic clinique et expérimental chez le chien.

Il y aurait lieu, en particulier, de pratiquer la réaction de fixation — non seulement avec des sérums tuberculeux — mais encore avec des sérums de chiens atteints de localisations diverses de la maladie du jeune âge. Le fait que le sérum des carnivores hémolyse très rapidement les hématies ne constitue pas un empêchement à la pratique de la méthode de Bordet-Gengou.

Il suffira, pour éviter cette hémolyse, de recueillir le sérum soit par centrifugation, soit dans les toutes premières heures de l'exsudation.

Un chien, atteint d'ostéo-arthropathie hypertrophiante des jarrets, nous donna une réaction de déviation nettement positive avec les deux antigènes tuberculeux. Son sérum titrait 20 unités d'anticorps.

L'autopsie confirma le diagnostic clinique et la séro-réaction : tuberculose du poumon et de la plèvre, du péricarde et du myocarde, des ganglions de la cavité thoracique. 2 cobayes, inoculés sous la peau avec le produit de broyage des ganglions trachéo-bronchiques, se tuberculisèrent selon les données classiques.

Trois sérums normaux, provenant de chiens en excellent état de santé, donnèrent une réaction de fixation négative.

Il serait imprudent de dire, dès maintenant, que la tuberculose des carnivores domestiques peut être décelée par la

déviation du complément. Des expériences en cours préciseront les indications du procédé et les résultats qu'en peut tirer le laboratoire.

IV. — Réaction de fixation et entérite chronique hypertrophiante des bovidés.

Depuis plusieurs années, la réaction de fixation est appliquée au diagnostic de la maladie de Johne. Twort, le premier, signale les résultats qu'il obtient. Ses recherches sont reprises par de nombreux auteurs, parmi lesquels il convient de citer O. Bang, Andersen, Sheather, etc.

Bang et Andersen (1) utilisent comme antigène une émulsion de cultures de l'agent de la maladie. Indépendamment de ce procédé, exécuté selon les règles classiques de la réaction de Wassermann, Bang et Andersen substituaient, à l'antigène paratuberculeux, un antigène tuberculeux, provenant d'une souche de bacilles de Koch authentiques, isolés sur un perroquet et de type vraisemblablement humain.

Ces deux auteurs montrent alors que le sérum de vaches à entérite chronique hypertrophiante fixe le complément en présence de bacilles tuberculeux aussi bien, sinon mieux, qu'en présence des bacilles paratuberculeux spécifiques :

Sur 25 sérums de vaches atteintes de diarrhée chronique :

52 p. 100 donnent une réaction positive en présence d'antigène tuberculeux (bacilles du type humain);
28 p. 100 donnent une réaction positive en présence d'antigène paratuberculeux;
24 p. 100 donnent une réaction positive en présence d'antigène tuberculeux (bacilles du type aviaire).

Sans connaître ce travail des savants danois, les essais que nous avons poursuivis concernent les sérums de 4 vaches atteintes d'entérite chronique hypertrophiante et de 2 jeunes bovidés infectés expérimentalement avec *Bacterium Phlei* (2).

(1) Bang et Andersen. *Centralblatt für Bakteriologie*, t. 69, 1913.

(2) Ces deux sujets ont été mis à notre disposition par MM. Vallée et Rinjard à qui nous exprimons toute notre reconnaissance et qui, grâce à l'emploi d'excipients irrésorbables, ont réussi à conférer à *Bacterium phlei* des qualités hautement pathogènes par inoculation sous-cutanée. Leurs travaux, qu'ils nous permettent de citer ici pour la compréhension des faits, feront de leur part l'objet d'une publication spéciale.

Nous nous sommes proposés de rechercher si ces divers sérums fixaient le complément en présence des antigènes tuberculeux de Boquet et Nègre et de Besredka.

Mais, point important qui domine tout le problème, nous nous sommes assurés systématiquement sur ces six organismes de l'absence de tuberculose. Trois de nos bêtes à entérite chronique hypertrophiante, non réagissante à la tuberculine (épreuve intradermique sous-caudale), furent autopsiées : aucune lésion tuberculeuse ne put être décelée. La quatrième, également non réagissante à l'épreuve sous-caudale, ne présente à l'heure actuelle aucun signe de suspicion. Les deux veaux, inoculés avec le bacille de la phléole, n'ont jamais réagi à l'intradermo-tuberculination.

Tous ces sérums furent toujours prélevés avant la tuberculination.

Les résultats obtenus, soit avec l'antigène alcoolo-acétonique, soit avec l'antigène à l'œuf, ont été en tous points concordants : la réaction de fixation est nettement et fortement positive ainsi qu'en fait foi le tableau suivant :

NUMÉRO	AUTOPSIE	TUBERCULINATION	ANTIGÈNE Boquet et Nègre	ANTIGÈNE Besredka
1. . . .	Pas de tuberculose.	»	++++	++
2. . . .	Id.	Pas faite.	++++	+++
3. . . .	Id.	Pas faite.	+++++	+++++
4. . . .	Encore vivante.	»	+++++	+++++
5. . . .	Encore vivant (Veau phéolisé).	»	++++	++++
6. . . .	Encore vivant (Veau phéolisé).	»	++++	++++

Nos essais confirment donc tout à fait les résultats obtenus avant nous par Bang et Andersen. Comment interpréter ces réactions de fixation positives, les antigènes d'une part et les anticorps d'autre part étant — du moins il est permis de le supposer — de nature essentiellement différente?

Point n'est besoin de rappeler ici l'analogie qui existe entre le bacille tuberculeux vrai, le bacille de Johne et le bacille de la phléole. Ces germes, de pathogénéité diverse, ont un caractère

qui les rapproche : par leur acido-résistance, par leur constitution chimique particulière, ils forment un groupement homogène. Ce qui les caractérise par rapport aux réactifs histochimiques, c'est — ainsi que l'ont montré Vallée, Goris, etc. — la présence de matières grasses et de lipoïdes dans les substances qui constituent le protoplasma cellulaire.

Les bacilles acido-résistants, dont nous avons étudié les réactions dans l'organisme, auraient donc, du fait de leur constitution intime, des propriétés antigéniques communes. Or, les antigènes que nous employons dans la méthode de déviation du complément renferment, comme Boquet et Nègre l'ont signalé (1), une substance de nature lipoïdique, *commune à plusieurs espèces microbiennes*, capables de provoquer *in vivo* la formation d'anticorps analogues à ceux que développe la lécithine de l'œuf.

Ces constatations éclairent d'un jour nouveau les qualités antigéniques communes des bacilles acido-résistants, rapprochent à ce point de vue les germes paratuberculeux des tuberculeux vrais, et permettent de comprendre comment les sérums de sujets atteints d'entérite chronique ou infectés de phléole renferment, aussi bien que les sérums d'animaux tuberculeux, des anticorps susceptibles de s'unir étroitement aux antigènes utilisés.

De plus nos essais suggèrent quelques observations inédites. Si, grâce à des lipoïdes spéciaux, encore mal connus, les germes acido-résistants, pathogènes ou non, impriment aux organismes qui les hébergent des propriétés spéciales, telles que les sérums de ces animaux fixent le complément en présence d'un antigène tuberculeux vrai, on peut en inférer, à juste titre, semble-t-il, la non-spécificité de la réaction de fixation en matière de tuberculose des bovidés.

Nos expériences en sont une preuve typique. Il n'est pas possible ainsi de différencier, par le seul moyen de la méthode de déviation du complément, la tuberculose bovine de l'entérite chronique hypertrophiante ou de certaines infections expérimentales à bacilles acido-résistants.

(1) Boquet et Nègre, Sur les propriétés antigènes des extraits alcoolo-méthyliques des bacilles de Koch et des lécithines. *C. R. de la Soc. de Biol.* 1er avril 1922.

Nous venons de nous rendre compte que le pouvoir, présenté par les divers antigènes tuberculeux, de fixer l'alexine en présence d'un sérum tuberculeux est fonction des lipoïdes bacillaires ou des complexes de ces lipoïdes, lesquels, par leurs caractères de solubilité, se rapprochent du groupe des phosphatides (Nègre et Boquet).

D'où l'idée de comparer le pouvoir de fixer le complément chez les antigènes tuberculeux vrais, d'une part, et, d'autre part, chez d'autres antigènes renfermant des lipoïdes identiques ou des lipoïdes se rapprochant de ceux qu'on rencontre dans les antigènes tuberculeux proprement dits.

D'où l'idée encore de comparer (ainsi que nous l'avons fait), à l'égard d'un même antigène tuberculeux, le sérum d'animaux infectés, naturellement ou expérimentalement, au moyen de bacilles dont la constitution chimique se rapproche de celle du bacille tuberculeux authentique (groupe des germes acido-résistants).

De nombreux auteurs : Massol et Grysez (1), Boquet et Nègre (2), Urbain (3) ont montré que les bacilles tuberculeux aviaires, pisciaires ; les germes paratuberculeux (Korn, Grassberger, Möller, Phléole, etc.); le bacille diphtérique, servant d'antigène, fixent aussi le complément en présence de sérums tuberculeux.

Pour Massol et Grysez en particulier, le bacille diphtérique, dont la constitution chimique se rapproche de celle des bacilles de Koch, fixe des anticorps produits par ces derniers, et inversement : le sérum de chevaux immunisés contre la toxine diphtérique donne une réaction de fixation positive avec le bacille tuberculeux.

En présence de pareils faits on conçoit que la nature des antigènes ainsi utilisés incite à douter de plus en plus de la spécificité de la réaction de fixation dans la tuberculose.

Et une analogie troublante se présente tout aussitôt en nos esprits. Déjà la réaction de Bordet-Wassermann, en matière de syphilis humaine, a été dissociée des phénomènes qui reposent essentiellement et uniquement sur les interactions anti-

(1) Massol et Grysez. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1914, p. 428.
(2) Nègre et Boquet. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1920, p. 360.
(3) Urbain. Ces *Annales*, juin 1922.

gènes-anticorps. Est-ce que la réaction de fixation dans la tuberculose ne serait pas un phénomène physique de même nature ou de même ordre? Nous poursuivons des recherches sur ce point particulier, mais dès maintenant nous tenons à montrer un aspect du problème.

Et peut-être pourrait-on dire du sérum tuberculeux ce que Rubinstein (1) écrivait du sérum syphilitique :

« Les substances auxquelles le sérum tuberculeux doit ses propriétés d'annihiler l'action de l'alexine en présence d'un antigène sont dues à un changement d'équilibre du plasma (sérum) sanguin provoqué par la présence, dans l'organisme, du bacille tuberculeux.

« Cette action d'antigènes et de sérums à colloïdes labiles, se faisant en présence des colloïdes du sérum alexique, est suivie de la destruction de cette alexine ; destruction sur la nature de laquelle nous sommes peu renseignés, mais qui se laisse apprécier le mieux par le phénomène de l'hémolyse. »

V. — Réaction de fixation et injection de tuberculine chez les bovidés.

De nombreux auteurs se sont préoccupés de savoir si l'injection de tuberculine, pratiquée chez différents organismes, humains ou animaux, sains ou tuberculeux, amenait la formation consécutive d'anticorps spécifiques.

La question a été particulièrement bien étudiée chez l'homme tuberculeux. Wassermann et Brücke (2) ; Calmette, Massol et Mézie (3) ont montré que les injections de tuberculine favorisent la production des anticorps chez les sujets infectés et augmentent la richesse de leurs sérums en ces éléments.

La réaction de fixation au moyen des antigènes tuberculeux, de Boquet et Nègre d'une part, de Besredka d'autre part, constitue un test commode pour évaluer la production (ou la non-production) d'anticorps après toute inoculation tuberculinique. C'est cette méthode de recherche que nous avons adoptée.

(1) Rubinstein. *Traité pratique de sérologie et de séro-diagnostic*, Maloine, 1921.
(2) Wassermann et Brucke. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1906.
(3) Calmette, Massol et Mézie, Recherche et dosage des sensibilisatrices tuberculeuses, ou anticorps, au cours de la tuberculinothérapie par diverses tuberculines. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 13 juillet 1912.

Nous allons étudier successivement, au cours de ce chapitre, si l'injection de tuberculine :

1° Provoque la formation d'anticorps chez les bovidés sains ;

2° Augmente la richesse en anticorps des sérums des bovidés tuberculeux.

Calmette (1) s'exprime ainsi dans son traité magistral : « Sans doute on arrive bien à sensibiliser des animaux sains en les *préparant* par des injections (surtout intraveineuses) de fortes doses de tuberculine ». Mais l'auteur ne nous dit pas si cette sensibilisation d'un organisme non infecté s'accompagne de la production d'anticorps tuberculeux.

Nous avons d'abord recherché par la méthode de la déviation du complément, si le sérum de certains bovidés renfermait des anticorps tuberculeux.

Lorsque la réaction était négative nous tuberculinions ces animaux, soit par le procédé classique de l'inoculation sous-cutanée de 5 cent. cubes de tuberculine diluée au 1/10, soit par le procédé de l'intradermo-tuberculination à la base de la queue (1/10 de cent. cube de tuberculine au quart).

Nous cherchions ensuite, *sur les animaux non réagissants à l'épreuve tuberculinique*, les caractères de la réaction de fixation pratiquée à intervalles réguliers après la tuberculination (2).

Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau suivant.

Ce tableau appelle quelques commentaires.

Nous constatons d'abord que l'injection de tuberculine, effectuée selon les règles et au moyen des doses classiques, ne provoque pas la formation d'anticorps spécifiques dans l'organisme sain, et ce, quel que soit le moment où l'on cherche à déceler leur apparition.

Que la réaction de fixation soit en effet pratiquée peu de temps après l'épreuve à la tuberculine (deux et six jours) ou qu'on laisse à l'économie le temps normal de réagir en fabriquant les substances spécifiques (sept, dix et douze jours), aucun anticorps n'apparaît dans les sérums des sujets sains tuberculinés.

(1) Calmette, L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux domestiques, p. 445.

(2) La tuberculine qui nous a servi au cours de nos essais est celle livrée par l'Institut Pasteur de Paris pour le diagnostic de la tuberculose des bovidés.

La vache n° 12 est caractéristique à cet égard ; ni dix jours, ni vingt et un jours, ni trente et un jours après l'inoculation de tuberculine, on ne put mettre d'anticorps en évidence. Nous sommes donc autorisés à conclure que la tuberculine ne pro-

	NUMÉRO des vaches	RÉACTION de FIXATION avant la tuberculination	1re réaction de fixation	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuberculination et la 1re réaction de fixation	2e réaction de fixation	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuberculination et la 2e réaction de fixation	3e réaction de fixation	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuberculination et la 3e réaction de fixation
TUBERCULINATION SOUS-CAUDALE	1 . .	—	—	14 jours.	»	»	»	»
	2 . .	—	—	14 —	—	»	»	»
	3 . .	—	—	14 —	—	18 jours.	»	»
	4 . .	—	—	2 —	—	12 —	»	»
	5 . .	—	—	12 —	»	»	»	»
	6 . .	—	—	10 —	»	»	»	»
	7 . .	—	—	19 —	»	»	»	»
	8 . .	—	—	12 —	»	»	»	»
	9 . .	—	—	12 —	»	»	»	»
	10 . .	—	—	12 —	»	»	»	»
TUBERCULINATION SOUS-CUTANÉE	11 . .	—	—	20 —	»	»	»	»
	12 . .	—	—	10 —	—	21 jours.	—	31 jours.
	13 . .	—	—	7 —	—	12 —	»	»
	14 . .	—	—	6 —	—	»	»	»
	15 . .	—	—	7 —	—	12 jours.	»	»
	16 . .	—	—	7 —	—	12 —	»	»
	17 . .	—	—	7 —	—	12 —	»	»

voque pas l'apparition d'anticorps spécifiques chez les individus sains qui la reçoivent au titre du diagnostic.

La dose semble posséder peu d'influence : une dose aussi infime que 1/10 de cent. cube de tuberculine diluée au quart; une dose forte comme 5 cent. cubes de tuberculine au 1/10 se révèlent également impuissantes.

Il resterait à chercher l'influence sur la formation des anticorps des tuberculinations répétées. Nous nous proposons de poursuivre nos recherches en la matière, en vue d'élucider ce point spécial.

Signalons, avant de conclure, la différence qui existe entre les qualités antigéniques de la tuberculine et de la malléine, au point de vue de leur action chez les organismes sains. Ici

(malléine) le produit fait apparaître presque toujours une sensibilisatrice dans le sang des chevaux non infectés de morve (1). Là, au contraire (tuberculine), la substance se comporte comme un corps inerte dans l'organisme. Le contraste était intéressant à mettre en lumière.

En ce qui concerne les sujets tuberculeux, on sait au contraire que la tuberculine — ou mieux les diverses tuberculines — favorisent parfois au plus haut point la production d'anticorps.

Nos expériences parlent dans le même sens et sont résumées de la façon la plus nette dans le tableau qui suit :

La lecture de ce tableau suggère quelques observations : l'injection de tuberculine favorise dans l'organisme infecté la production des anticorps spécifiques.

C'est environ douze jours après la tuberculination que le taux des anticorps dans les sérums se montre le plus élevé. Puis ce taux ou bien reste stationnaire, ou bien décroît dans les jours qui suivent.

Quelle part faut-il accorder à l'injection d'une dose unique de tuberculine ou à la pratique de tuberculinations souvent répétées dans l'accroissement de la richesse des sérums en anticorps? Nous ne pouvons répondre à ce sujet, puisque nous n'avons jamais renouvelé chez les sujets une première fois sollicités les tuberculinations par l'un ou l'autre mode. Il est donc permis de conclure ainsi (2) : la tuberculine se conduit comme la malléine; elle augmente de façon notable le taux des anticorps chez les animaux tuberculeux.

Nous voudrions attirer tout particulièrement l'attention sur la vache n° 22 de notre tableau. Ce sujet — sain de par l'examen tuberculinique, sans lésions spécifiques, apparentes ou occultes à l'autopsie — donna en tous les cas une réaction de fixation nettement positive, qui fut exacerbée comme nous l'indiquons, à la suite de l'injection intradermique de tuberculine. Les veaux 23 et 24 sont également intéressants à plus d'un titre. Injectés dans le derme du pli caudal avec 1/10 de cent. cube d'un extrait de *Bacterium phlei*, ils donnent une réaction posi-

(1) Brocq-Rousseu, P. Forgeot et Urbain, Sur la formation des anticorps à la suite des injections de malléine. Ces *Annales*, 1921, p. 879.

(2) Brocq-Rousseu, Forgeot et Urbain, *loc. cit.*

N°	RÉACTION de FIXATION avant la tuberculination	TUBERCULINATION sous-cutanée	PREMIÈRE RÉACTION de FIXATION après la tuberculination	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuberculination et la 1re réaction de fixation	DEUXIÈME RÉACTION de FIXATION	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuberculination et la 2e réaction de fixation
18	+	+ Réaction thermique 1°9.	++	10 jours.	++	21 jours.
19	—	+ Réaction thermique 1°5.	++	12 —	+	21 —
		TUBERCULINATION intradermique sous-caudale				
20	+	+++	++	12 —	»	»
21	++	++	++++	12 —	»	»
22	++++	—	+++++	10 —	+++++++	21 jours.
	VEAUX infectés avec *Bacterium phlei*	TUBERCULINATION intradermique avec extrait de *Bacterium phlei*				
23	++++	+	+++++	6 —	»	»
24	++++	+	+++++	6 —	»	»

tive et l'insertion de l'extrait de phléole augmente le taux des anticorps dans le sang circulant.

Donc, en résumé, nous dirons avec Calmette que les injections de tuberculine augmentent la richesse des sérums en anticorps spécifiques.

*
* *

Le mécanisme de la réaction à la tuberculine des organismes infectés s'éclaire peut-être à la lumière des faits que nous venons d'exposer.

La tuberculine introduite chez un individu bacillisé rencontre dans l'économie — si l'on veut bien se reporter aux travaux de M. Nicolle (1) et admettre ses concepts — une lysine préformée.

L'anticorps lytique décompose la tuberculine, extrait de ce poison brut un poison vrai, plus ou moins toxique, lequel détermine les accidents inflammatoires locaux, généraux et fébriles que chacun connaît.

Mais ce poison vrai n'est peut-être pas le seul produit résultant de la lyse de la tuberculine à l'intérieur du corps. Cette lyse de l'endotoxine tuberculeuse (selon l'expression de Calmette) donne naissance à d'autres substances que nous ne connaissons pas et qui ont probablement une fonction antigène bien développée — puisque la quantité d'anticorps croît dans les organismes infectés après l'injection tuberculinique.

Chez les sujets sains, au contraire, la tuberculine se comporte comme un bloc inerte, puisque nulle lysine ne vient décomposer le produit. Et l'antigène inconnu, que l'organisme infecté sait dévoiler à la faveur d'une action lytique préalable, reste caché chez le sujet sain dans le produit complexe qu'est la tuberculine, impuissante ainsi à provoquer la formation d'anticorps. C'est ce que nous prouve la réaction de fixation, mais il est possible — et sur ce point particulier nous ne saurions conclure — que l'inoculation répétée de tuberculine à des organismes sains amène la réalisation d'anticorps spécifiques.

Cette conception du mécanisme intime de la réaction tuberculinique jette aussi quelque clarté sur certaines observations. « Il est facile de constater, dit le professeur Calmette (2), que les sérums les plus riches en anticorps n'ont aucune propriété neutralisante *in vitro* vis-à-vis des tuberculines. »

Si, comme nous le pensons, c'est bien l'anticorps lytique qui préside à la scission, dans l'économie infectée, de la tuberculine en ses éléments principaux (actif et non antigène, inactif et antigène), on conçoit qu'*in vitro* la même dissociation — ou tout au moins une ébauche de cette dissociation — se produise.

(1) M. Nicolle, Conception générale des anticorps et de leurs effets. Ces *Annales*, 1908.

(2) Calmette, *loc. cit.*, p. 509.

Le sérum, loin de neutraliser la tuberculine, en prépare en quelque sorte l'action.

Il doit y avoir une relation étroite entre le moment où apparaît l'aptitude réactionnelle à la tuberculine et la première formation des anticorps — ou seulement de certains anticorps — dans le sérum des sujets bacillisés.

Les méthodes de réaction de fixation, chaque jour plus sensibles, permettront peut-être, dans un avenir prochain, d'élucider ce point. Disons simplement que pendant longtemps on a cru à l'absence d'anticorps spécifiques lors de tuberculoses chirurgicale, osseuse, etc. Tout récemment Moser et Fried (1) ont montré qu'il n'en était rien.

En définitive, la tuberculine se comporterait dans l'organisme bacillisé comme si elle réalisait l'union de deux éléments : l'un, inactif et antigène; l'autre, actif (toxique, hyperthermisant, etc.) et non antigène (2).

Dans l'organisme sain, au contraire, les deux éléments ne sont pas dissociés par l'anticorps lytique et la tuberculine se comporte comme un bloc inerte, à la fois non actif et non antigène.

VI. — Valeur de la réaction de fixation dans la tuberculose des bovidés.

Quelle est, en définitive, la valeur de la réaction de fixation dans le diagnostic de la tuberculose des bovidés? Les conclusions suivantes de Küss et Rubinstein (3) reflètent assez exactement notre pensée. « La réaction de fixation fournit des renseignements précieux pour la diagnose. »

« Une réaction négative ne permet point de rejeter l'idée de tuberculose, mais une séro-réaction positive est un argument de grande valeur en faveur de l'existence d'une lésion tuberculeuse ayant un certain degré d'activité. »

Tout en nous associant à cette formule, nous y ferons cepen-

(1) Fried et Moser, Réaction de fixation à l'antigène de Besredka dans la tuberculose externe. Ces *Annales*, 1921, p. 388.

(2) M. Nicolle et Césari, Colloïdes, catalyse, antigènes, anticorps. Ces *Annales*, 1922, p. 463.

(3) Kuss et Rubinstein, cité dans Rubinstein. *Traité pratique de sérologie et de séro-diagnostic*, p. 314.

dant une réserve importante. Les affections à bacilles acido-résistants, l'entérite chronique hypertrophiante des bovidés en particulier, imposent beaucoup de prudence dans l'interprétation des résultats d'une réaction de fixation. Il est parfois difficile de différencier cliniquement ces processus morbides; la séro-réaction ne permet pas d'éclairer le praticien et d'assurer un diagnostic certain.

Pour nous, vétérinaires, la méthode de la déviation du complément est d'une spécificité relative et limitée. Elle confond certaines affections que l'on sait distinctes, bien que voisines les unes des autres (tuberculose et diarrhée chronique); il est infiniment probable qu'elle ne décèle pas toutes les bacillisations occultes ou encore les lésions étroitement localisées ou en voie de régression.

Chez les bovidés, comme chez l'homme, une réaction positive plaide en faveur « de l'existence d'une lésion tuberculeuse ayant un certain degré d'activité. »

Peut-être alors la déviation du complément, moins banale, moins étendue que les procédés de tuberculination, pourrait-elle servir à déceler la tuberculose chez les vaches laitières? Seraient éliminées des troupeaux laitiers, non plus toutes les femelles réagissant à la tuberculine, mais toutes celles dont la réaction de fixation serait fortement positive en présence d'un antigène tuberculeux.

Nous ne pensons pas cependant, contrairement à Hruska et Pfenninger, que le procédé soit appelé à rendre de grands services dans la lutte contre la tuberculose bovine et l'éradication de ce fléau. La tuberculine aura toujours les préférences du praticien.

Toutefois dans la méthode de prophylaxie qui consiste à déceler uniquement les formes ouvertes (méthode dite de Siedamgrotsky-Ostertag), on pourrait peut-être substituer, à la recherche des tuberculoses ouvertes par l'examen clinique et bactériologique, l'étude des sérums suspects par le procédé de Bordet-Gengou. Mais des essais nombreux sont encore nécessaires pour préciser, d'une part les indications et le mode opératoire d'une pareille technique, d'autre part le nombre des sujets à éliminer d'après les résultats.

En résumé, telle qu'elle se présente à nous actuellement, la

déviation du complément est une méthode délicate dans sa technique et dans son interprétation. Küss et Rubinstein ont insisté d'ailleurs sur la difficulté de juger du résultat de la réaction lorsqu'elle est atténuée, bien que faite avec une irréprochable technique.

De plus, la méthode nécessite des opérateurs éprouvés, un matériel compliqué, de nombreux produits que seul peut se procurer le laboratoire. Ces raisons si diverses: spécificité relative, technique complexe et coûteuse, difficultés d'exécution, font que la réaction de fixation restera, longtemps encore, une méthode qu'utiliseront seulement les laboratoires spécialisés ou les instituts techniques.

Comme le dit Calmette dans son traité, la déviation du complément ne constitue pas seulement une réaction de la tuberculose-maladie, mais aussi et d'une manière plus générale une réaction de la tuberculose-infection. C'est ce qui, selon nous, en restreindra l'emploi, et fera que les injections de tuberculine jouiront longtemps encore, dans le domaine de la médecine vétérinaire, de la faveur justifiée des praticiens.

VII. — Conclusions.

De l'ensemble des faits qui précèdent, il est permis de tirer les conclusions suivantes :

1° Les sérums des bovidés tuberculeux fixent l'alexine en présence de l'antigène de Boquet et Nègre et de l'antigène de Besredka. La réaction est positive dans 90,5 p. 100 des cas.

2° Les sérums des bovidés cliniquement indemnes de tuberculose et ne réagissant pas à la tuberculine donnent une réaction de fixation négative dans 88,8 p. 100 des cas.

3° Les sérums à étudier doivent être inactivés par chauffage d'une demi-heure à 60°. On diminue ainsi notablement le pouvoir anticomplémentaire spontané de certains sérums.

4° Les antigènes de Boquet et Nègre et de Besredka ont à peu près la même sensibilité au regard des sérums de bovidés, sains ou tuberculeux. Peut-être celui-ci (Besredka) est-il un peu moins sensible que celui-là (Boquet).

5° Le vieillissement, de deux à vingt et un jours, des sérums

à la glacière n'altère pas leur richesse en anticorps spécifiques. Leur pouvoir anticomplémentaire ne semble pas, non plus, augmenté de ce fait.

6° Une réaction de fixation négative, chez des bovidés tuberculeux ou réagissants à la tuberculine, tient peut-être, comme l'a montré le professeur Calmette, à l'absence d'anticorps dans leur sérum.

7° Les sérums des bovidés tuberculeux, non traités par la tuberculine, sont pauvres en anticorps ; le taux oscille entre 10 et 20 unités (mesurées selon la technique de Calmette et Massol).

8° Chez les bovidés sains, l'injection unique de tuberculine — aux doses employées couramment dans le diagnostic de la tuberculose bovine — ne provoque pas la formation d'anticorps.

9° Chez les bovidés tuberculeux, les mêmes doses de tuberculine, en injection unique, augmentent d'une façon notable le taux des anticorps spécifiques.

10° Cette augmentation a lieu surtout du douzième au quinzième jour qui suit l'inoculation de tuberculine et varie probablement avec la dose injectée.

11° Contrairement à ce qui se passe en matière de morve, on peut associer en tout temps la réaction de déviation du complément aux diverses méthodes de tuberculination dans le diagnostic expérimental de la tuberculose des bovidés.

12° Il ne semble pas y avoir de relation entre la richesse en anticorps des sérums de bovidés tuberculeux et l'intensité de la réaction tuberculinique.

13° Confirmant les conclusions d'Armand-Delille, nous dirons que la réaction de fixation et la réaction à la tuberculine n'ont pas la même signification chez les bovidés tuberculeux.

14° Par contre, un certain parallélisme semble exister entre la fréquence des résultats positifs dans la réaction de fixation et l'étendue du processus morbide.

15° La déviation du complément serait parfois en rapport avec la résistance de l'organisme tuberculeux. Ainsi, chez une vache infectée, la réaction devint négative dans les jours qui précédèrent la mort.

16° Les sérums d'animaux atteints d'entérite chronique

hypertrophiante dévient le complément en présence de l'antigène de Boquet et Nègre et de l'antigène de Besredka.

17° La méthode de Bordet-Gengou, appliquée au diagnostic de la tuberculose des bovidés, est, partant, d'une spécificité relative et limitée.

18° La réaction de fixation est d'autant plus nette qu'il s'agit d'un processus tuberculeux en activité ou de lésions en voie d'évolution.

Il en résulterait que :

a) La méthode pourrait être appliquée au diagnostic de la tuberculose des vaches laitières ;

b) Elle mériterait d'être préconisée dans la prophylaxie sanitaire de la tuberculose, suivant la méthode d'Ostertag.

On éliminerait les individus donnant une réaction de fixation positive forte.

19° Nous poursuivons des recherches en ce qui concerne la valeur de la déviation du complément dans la recherche de la tuberculose des carnivores domestiques.

*
* *

Avant de terminer ce mémoire, nous sommes heureux d'adresser nos plus vifs remerciements à M. le professeur Vallée, directeur du Laboratoire de recherches des services vétérinaires de l'Etat, pour l'aide précieuse que nous avons toujours trouvée près de lui ; à M. le professeur Moussu qui a bien voulu mettre à notre disposition trois vaches atteintes de diarrhée chronique ; à M. le professeur Besredka et à MM. Boquet et Nègre, de l'Institut Pasteur de Paris, pour les matériaux de travail qu'ils n'ont pas cessé un seul instant de nous prodiguer ; à M. le vétérinaire-major Urbain qui a initié l'un de nous aux détails de la technique de la réaction de fixation (méthode de Besredka) ; à MM. E. Grasset et Mario de Oliveira dont la collaboration nous fut d'un grand secours durant toutes nos recherches.

(Ecole vétérinaire d'Alfort.)

LES MOUCHES TSÉTSÉS DANS L'OUEST AFRICAIN

DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE — HISTOIRE — ROLE PATHOGÈNE

par E. ROUBAUD.

I. — La distribution géographique des tsétsés.

Avant de passer à une étude biologique rationnelle des tsétsés ou glossines, dans la forme où il convient de la concevoir, pensons-nous, pour bien saisir les conditions de leur rôle pathogène, il faut tout d'abord les situer géographiquement ainsi que les différentes affections qu'elles transmettent. C'est l'objet du document cartographique joint à ce travail.

Au cours des différentes missions dont nous avons été chargés, le Dr G. Bouet et moi, de 1906 à 1916, par le gouvernement général de l'Afrique Occidentale française, ou par l'Institut Pasteur, nous avons pu recueillir les éléments nécessaires à l'établissement d'une Carte générale de la Distribution des mouches tsétsés et des maladies à trypanosomes dans nos colonies de l'Ouest africain. Nos itinéraires, dont le tracé sur la carte est indiqué par un trait plein, épais, continu, portent en effet sur *une dizaine de milliers de kilomètres* dans leur ensemble et couvrent près des deux tiers de l'Afrique Occidentale française. Aux données que nous avons ainsi recueillies au cours de prospections attentives, faites tantôt en commun, tantôt isolément, nous avons ajouté celles qui résultent des observations d'auteurs divers, en particulier de G. Bouffard, A. Chevalier, H. Hubert, G. Martin, G. Pécaud, Thiroux et ses collaborateurs ; celles aussi qu'il nous a été possible de recueillir, soit en étudiant les collections du Muséum de Paris ou de l'Institut Pasteur, du *British Museum* ou de l'Ecole de Liverpool, soit dans les traités spéciaux.

Une carte générale laissant de côté les colonies étrangères de l'Ouest africain eût été forcément fragmentée dans sa documentation et peu expressive. Fort heureusement, les nom-

breux travaux publiés notamment par les observateurs anglais nous ont permis de combler la plus grande partie des lacunes qui se fussent ainsi présentées. Nous avons fait appel, entre autres, aux publications de Dutton et Todd (1), pour la Gambie anglaise, de Simpson pour la Gambie (2) et le Sierra Leone (3), de ce dernier auteur (4) et de Kinghorn (5) pour la Gold Coast et l'Ashanti, de Scott Macfie (6) pour la Nigeria, etc. De cette manière l'ensemble se complète et se concrétise : les principes généraux de la distribution géographique apparaissent avec une continuité plus favorable. Seules, l'absence ou l'insuffisance de renseignements pour la Guinée portugaise et le Liberia, jusqu'ici peu explorés au point de vue qui nous occupe, nous ont obligé à laisser à peu près en blanc l'étendue de ces territoires qui sont cependant, sans conteste, entièrement placés dans la zone d'influence des glossines.

En ce qui concerne la répartition géographique des maladies à trypanosomes qui, en Afrique Occidentale, exception faite pour les trypanosomiases sahariennes, est toujours superposable à celle des tsétsés, il eût été intéressant de faire figurer également dans les provinces étrangères les indications relatives aux différents virus rencontrés. Malheureusement, la diversité très regrettable qui règne actuellement dans la nomenclature au sujet des affections trypanosomiennes animales, en dehors de nos colonies, ne nous a pas permis d'utiliser de la même manière que pour les glossines les documents étrangers relatifs à ces affections. Pour la trypanosomiase humaine, cependant, au sujet de laquelle l'accord est plus facile à faire, nous avons reporté les principales indications de répartition nécessaires.

Sans tenir compte des races ou des variétés dont l'intérêt n'existe pas dans un document de ce genre, nous avons reconnu la présence, en Afrique Occidentale, de neuf espèces différentes de glossines et de six virus trypanosomiens, dont quatre sont transmis spécifiquement par ces mouches, les deux

(1) *Bull. of Entom. Res.*, 2, octobre 1911.
(2) *Ibid.*, novembre 1913.
(3) *Ibid.*, 1911.
(4) *Ibid.*, mai 1913.
(5) *Ibid.*, avril 1914.
(6) *Ibid.*, mai 1913.

autres (Surra et Tahaga) sévissant en dehors de la zone d'influence de celles-ci. Les localités où a été constatée à coup sûr l'existence d'une espèce déterminée de glossine sont marquées par un signe arrondi dont l'ornementation diffère pour chaque espèce, ainsi que l'établit la légende. Nous avons différencié par un cercle de plus grand diamètre les grandes espèces du groupe *fusca-tabaniformis*, des espèces courantes de taille plus réduite. Quant aux virus, ils sont notés chacun par une lettre initiale de la façon suivante : *S* pour l'agent de la maladie du sommeil, *C* pour *Tr. Cazalboui*, *D* pour *Tr. dimorphon*, *P* pour *Tr. Pecaudi*, *E* pour *Tr. Evansi*, *T.* pour *Tr. Soudanense* agent du Tahaga. Lorsqu'il s'agit d'un virus constaté dans une zone où il n'est pas normalement endémique, c'est-à-dire d'un cas d'importation probable, nous faisons surmonter la lettre initiale d'un trait horizontal : $\bar{S}$, $\bar{C}$, etc.

La présence, en abondance, du gros gibier dans une région donnée a toujours une certaine importance dans les régions à tsétsés. Elle indique en effet presque à coup sûr une multiplication très grande des mouches et tout particulièrement d'une d'entre elles, la *Glossina morsitans*, spécialement néfaste aux troupeaux domestiques. Aussi avons-nous indiqué par de petites croix, sur la carte, les régions particulièrement riches en gibier, qui sont du même fait à peu près interdites aux animaux domestiques.

En dehors des lieux de capture exacte constatés par nous-même ou par d'autres collaborateurs, nous avons également tenu à représenter par des hachures la zone d'extension, considérée comme *probable*, des quatres principales espèces de glossines ouest-africaines : Gl. *palpalis*, Gl. *tachinoïdes*, Gl. *longipalpis* et Gl. *morsitans*. Pour chacune de ces espèces nous avons adopté un système spécial de hachures ainsi que l'indique la légende.

Ces zones d'extension probable doivent être considérées comme les zones d'influence, au moins saisonnière, de l'espèce considérée. Elles n'impliquent nullement la présence constante toute l'année de la glossine en tout point de la zone envisagée. Mais elles font ressortir la probabilité d'existence, à quelque période de l'année, des glossines en ce point, et permettent de fixer ainsi, d'après nos connaissances actuelles sur la question, les grands traits de la distribution des principales espèces.

II. — Les zones à tsétsés de l'Afrique Occidentale.

La distribution géographique générale des tsétsés, dans l'Ouest africain, doit être étudiée en tenant compte des grandes subdivisions géobotaniques de ce territoire. Les glossines sont en effet, comme nous le montrerons, attachées à certains facies de végétation qui sont eux-mêmes la traduction en général de grandes actions climatériques. A ce point de vue, on peut distinguer en Afrique Occidentale trois grandes zones botaniques principales. Ce sont, du sud au nord, la zone de la *Grande Forêt*, localisée au voisinage de la côte ; celle des *Galeries Forestières* qui prolonge au cœur des *Savanes soudanaises* et *guinéennes* la végétation forestière, sous la forme de galeries ou de couloirs boisés le long des rives des cours d'eau ; enfin, la zone *sahélienne* ou zone des Epineux, caractérisée par des peuplements d'acacia à gomme et de jujubiers dont l'importance décroît au fur et à mesure que l'on se rapproche du Sahara. Les limites de ces grandes subdivisions géobotaniques : la Forêt, les Savanes soudanaises et guinéennes, les Epineux, sont reportées sur notre carte, en grande partie d'après les indications fournies par A. Chevalier (1). On peut ainsi se rendre compte des relations existant entre les grandes provinces botaniques et les différentes espèces de mouches.

En particulier, la limite d'extension vers le nord des Savanes à galeries, soudanaises et guinéennes, apparaît comme représentant sensiblement celle de l'extension septentrionale absolue des zones à tsétsés. Toutefois, d'après nos observations personnelles, la limite réelle d'extension de ces mouches vers le nord est un peu moins élevée ; elle coïncide avec un tracé à peu près semblable, mais plus méridional, qui correspond à la limite d'extension des cordons boisés continus, le long des cours d'eau.

Malgré la complexité apparente de notre tracé, on peut reconnaître que la dispersion géographique générale des principales espèces de tsétsés, en Afrique Occidentale, se présente exactement de la même manière que celle que nous avons précédemment fait connaître pour l'Afrique Équatoriale (2).

(1) Carte botanique, forestière et pastorale de l'Afrique Occidentale française. *La Géographie*, **26**, 1912, carte en couleurs à 1/3.000.000.

(2) Martin, Lebœuf et Roubaud. *La maladie du sommeil au Congo français*. Carte en couleurs hors texte. Paris, Masson, 1908.

Nous retrouvons, en effet, en Afrique Occidentale française les trois bandes principales superposées : une *bande méridionale* à *Gl. palpalis* qui renferme également, outre la zone de répartition de l'espèce de grande forêt *Gl. pallicera*, celle des grandes espèces du groupe *fusca-tabaniformis* ; une *bande moyenne* à *Gl. morsitans* et une bande *septentrionale* à *Gl. tachinoïdes*. Ces zones sont naturellement établies d'après la prédominance des espèces correspondantes, considérées ainsi comme espèces *caractéristiques* ; elles ne proscrivent nullement l'existence simultanée dans la même zone d'autres espèces plus secondaires.

Il faut ajouter à ces bandes d'espèces dominantes, pour l'Afrique Occidentale française, une zone à *Gl. longipalpis* qui s'intercale entre la zone à *palpalis*, côtière ou méridionale, et la zone à *morsitans*. Il est infiniment probable qu'une semblable zone doit se retrouver avec les mêmes relations géographiques en Afrique Equatoriale, mais les documents font actuellement défaut pour en préciser les limites. Il faut dire d'ailleurs que ces deux espèces de glossines, morphologiquement très voisines l'une de l'autre, ont été très fréquemment confondues par les observateurs, bien que cependant leur biologie, considérée surtout dans les rapports de ces espèces avec les cours d'eaux, soit, comme nous l'avons établi, très nettement différente.

Dans leur ensemble, les zones à tsétsés de l'Afrique Occidentale sont comprises, au sens large, entre la côte vers 5° de latitude N, et 14° de latitude N. Mais leur limite septentrionale est loin d'obéir à un tracé régulier en latitude. Ce tracé-limite est très sinueux. Il correspond, d'après nos observations, à la limite d'extension de la végétation boisée continue du bord des cours d'eau, limite qui n'obéit pas elle-même à des principes géographiques précis, parce qu'elle est subordonnée à de multiples influences géologiques ou hydrographiques. C'est ainsi que l'on voit, dans la région nigérienne de Say, la zone des galeries forestières pousser le long du Niger une avancée curieuse, entraînant avec elle les zones à tsétsés correspondantes. Cette avancée est due à l'accident rocheux qui relève sporadiquement, dans la région dite du W nigérien, entre Boumba et Kirtachi, les rives basses et sablonneuses du fleuve.

De même, sur la côte nord-ouest du Sénégal, les Niayes,

grâce aux dunes parallèles qu'y ont développées les alizés, constituent une sorte de cordon forestier littoral permettant l'extension correspondante des glossines jusqu'à l'embouchure du fleuve, au voisinage de Saint-Louis (16° lat. N.).

D'une façon générale, l'Afrique Occidentale peut être considérée comme infestée par les glossines *dans près des deux tiers de sa superficie*. Seules, les régions sahéliennes, au nord des fleuves Sénégal et Niger, en sont dépourvues (savanes à buissons épineux de la Mauritanie et du Sahel). Parmi les territoires qui s'étendent au sud du cours de ces fleuves, on peut seulement considérer comme exempts de mouches les savanes épineuses du Ferlo et la boucle du Sénégal, le cours de ce fleuve depuis quelque distance de l'embouchure jusqu'à Bafoulabé, celui du Niger des abords de Koulikoro à Say, et la presque totalité de l'intérieur de la boucle de ce grand fleuve. Encore faut-il faire des réserves pour l'îlot de Dori, où Bouffard a constaté l'existence de la *Gl. palpalis*. Il semble bien qu'il s'agisse ici d'un îlot témoin, actuellement isolé des grandes zones par le desséchement progressif de ces régions, sorte de rappel d'une extension passée, naguère beaucoup plus septentrionale encore, des glossines. Les influences désertiques, que l'on peut considérer comme en progression indiscutable dans les régions soudanaises septentrionales, si, dans l'ensemble, elles sont préjudiciables à la vie de ces régions, font cependant œuvre utile d'assainissement, comme nous le montrerons d'ailleurs plus loin, en exerçant sur l'extension des tsétsés une action prohibitrice radicale. Il faut malheureusement constater que, pris dans son sens absolu, le remède sans doute serait pire que le mal.

L'étendue de l'aire de dispersion en latitude des différentes espèces de glossines est très variable suivant les espèces. Les plus limitées géographiquement sont les espèces de grande forêt : *Gl. pallicera* et les grandes formes du groupe *fusca-tabaniformis*. La première, surtout, se confine très strictement à une faible distance de la côte (1). Dans l'ensemble, ces différentes espèces sont incluses dans les limites, marquées sur la carte, de la grande forêt vierge.

(1) Des observations encore inédites de G. Bouet permettent d'indiquer la présence de cette espèce dans les environs de Monrovia, au Liberia, avec *Gl. palpalis* et *Gl. fusca*.

L'espèce possédant la plus grande extension géographique est la *Gl. palpalis*. On la rencontre en effet depuis le littoral jusqu'à la limite extrême que nous avons donnée aux zones à tsétsés. Son aire de dispersion se superpose, à partir du 8° degré de latitude, à celle des espèces soudanaises, mais sa fréquence relative est de moins en moins grande au fur et à mesure que l'on s'élève vers le nord.

La *Gl. tachinoïdes*, véritable glossine du Soudan, est répandue de manière beaucoup plus dense que la *palpalis* dans toute la zone comprise au sud de la limite septentrionale des bordures forestières, jusque vers le 11e parallèle. Nous lui avons assigné comme limite occidentale, sensiblement le 10e de longitude W. Paris. Ce sont là les limites moyennes à l'intérieur desquelles l'espèce peut être rencontrée sensiblement toute l'année. Mais, sporadiquement, on peut aussi, suivant les saisons, constater sa présence beaucoup plus au sud. Au Dahomey, nous l'avons rencontrée en hivernage vers la latitude d'Abomey, pendant un temps, il est vrai, très court. Les auteurs anglais la signalent même plus bas encore.

Au sud de la grande zone à *tachinoïdes*, la *Gl. longipalpis* se présente suivant une bande, sans doute à peu près continue, qui s'étend en latitude entre le 6e et le 11e degrés Nord. Dans la partie méridionale de cette zone, l'espèce touche aux limites de la grande forêt, mais sans y pénétrer, semble-t-il, jamais, sauf accidents locaux. Cette glossine peut cependant être observée au voisinage de la côte en certains endroits, mais c'est à la faveur de coupures naturelles ou artificielles existant dans la barrière forestière. La grande forêt vierge ne s'étend pas en effet d'une manière homogène et continue suivant les limites théoriques qui lui sont assignées. En de nombreux endroits, surtout à l'ouest et à l'est de l'ensemble constitué par le Libéria et la Côte d'Ivoire, elle ne subsiste plus guère qu'à l'état d'îlots, séparés par des bandes de savanes boisées littorales. Bouet a cependant capturé la *Gl. palpalis*, en Côte d'Ivoire, entre Dimbokro et Bingerville, en pleine zone forestière, mais le long du rail. Il est vraisemblable que ce sont les mouvements des trains et les déboisements nécessités par l'établissement de la voie ferrée, qui ont permis l'accès de la mouche dans cette zone.

Les zones à *Gl. morsitans* sont plus septentrionales que les zones à *longipalpis*. Il est facile d'expliquer le fait par les caractères franchement xérophiles de l'espèce. D'autre part, cette Glossine, qui de toutes les espèces connues s'accommode le mieux d'un milieu sec, s'étend moins haut vers le nord que *Gl. tachinoïdes* et *Gl. palpalis*. Il y a là une constatation paradoxale en apparence. En réalité il faut comprendre que vivant exclusivement au voisinage des cours d'eau ombragés, les deux dernières espèces éprouvent moins directement que la *morsitans* les effets de la sécheresse. Quoique infiniment plus hygrophiles que la *morsitans*, elles peuvent se répandre plus loin que celle-ci qui vit dans les savanes, vers la zone sahélienne. Nous montrerons d'ailleurs que la résistance thermique de la *Gl. morsitans*, moindre que celle de la *Gl. tachinoïdes*, ne lui permet pas une avancée aussi septentrionale.

Nous connaissons en Afrique Occidentale française au moins quatre grandes régions où vit la *Gl. morsitans*. Ces régions sont marquées sur la carte par un contour en pointillé gras. Il est possible qu'elles soient unies entre elles de manière ininterrompue, mais les documents nous manquent pour l'affirmer.

La plus importante de ces zones à *morsitans* est celle qui couvre tout l'hinterland de la Guinée, la Haute-Casamance, la Haute-Gambie et les régions correspondantes de la voie ferrée de Thiès à Kayes, étudiées récemment par Bouet (1). Cette zone présente, comme avancée extrême vers l'ouest, un *témoin* de son ancienne extension continue. Ce témoin est constitué par la petite province du Niom-Bato sise entre les territoires du Saloum et de la Gambie. J'ai montré antérieurement (2) que les *fly-belts* à *morsitans* observés actuellement encore à l'état isolé dans cette région, ont dû se rattacher primitivement à la grande zone à *morsitans* de l'ouest. Ils en ont été séparés par les progrès de l'activité humaine, le défrichement et l'éloignement du gibier.

(1) G. Bouet, Contribution à l'étude des zones à glossines du Sénégal (région du chemin de fer de Thiès à Kayes). *Bull. Soc. Path. exot.*, **9**, 1916, p. 802.

(2) E. Roubaud, Les zones à tsétsés de la Petite-côte et du Bas-Saloum (Sénégal). *Bull. Soc. Path. exot.*, **8**, 10 mars 1915.

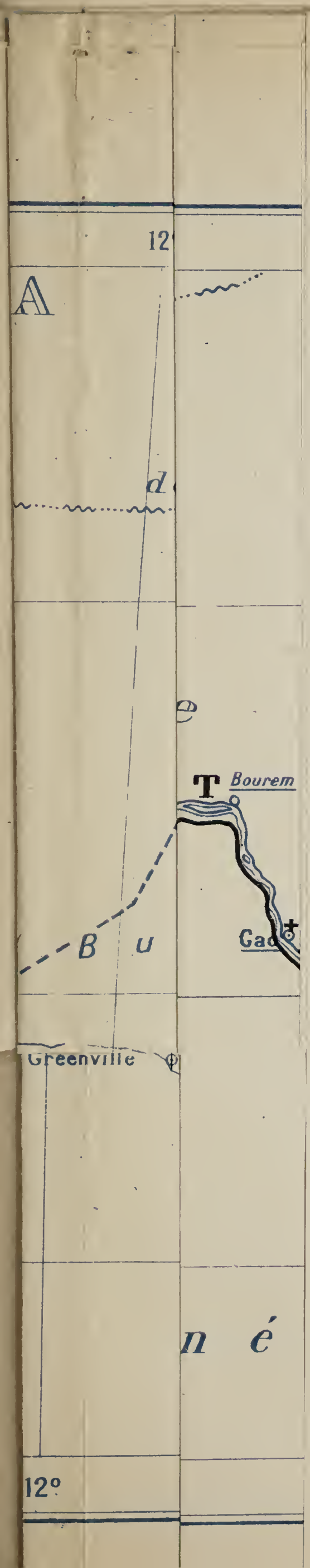
Les différentes zones à *Gl. morsitans* de l'Ouest africain ne sont d'ailleurs pas fixées sans doute d'une manière absolue dans leurs limites géographiques actuelles. Leurs relations étroites avec le gros gibier font que toutes les causes capables de faire varier la distribution géographique ou l'abondance relative de la grande faune sauvage influeront également dans le même sens sur la répartition des glossines de cette espèce. Les grandes épizooties, les chasses, la pénétration par voie ferrée sont appelées à modifier de façon sensible dans l'avenir la configuration et l'étendue relative des zones que nous avons tracées.

Toutes les espèces de glossines sont d'ailleurs susceptibles de présenter, au cours d'une même année, de grandes différences non seulement dans leur abondance relative, mais encore dans leur distribution géographique réelle. Du fait que l'on trouve mentionnée sur la carte l'existence d'une espèce dans une localité déterminée, on ne saurait déduire la présence constante de la mouche en ce point. L'inverse peut être également vrai : que la constatation précise d'une glossine n'ait pas été faite au cours d'un passage dans une localité, cela ne signifie pas qu'elle ne s'y rencontre ou ne s'y rencontrera jamais. Il existe en effet des facteurs de déplacement spontané des glossines, des courants de migration, pour les différentes espèces et dont nous étudierons les causes avant tout saisonnières. Nous avons indiqué par des flèches le sens des migrations pour les quatre espèces sus-mentionnées, dans la direction probable suivant laquelle ils donnent à l'espèce ses maxima d'extension. Nous reviendrons ultérieurement sur cette importante question.

(*A suivre.*)

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.


12
A
d
e
T Bourem
B u
Gao
Greenville
n é
12°

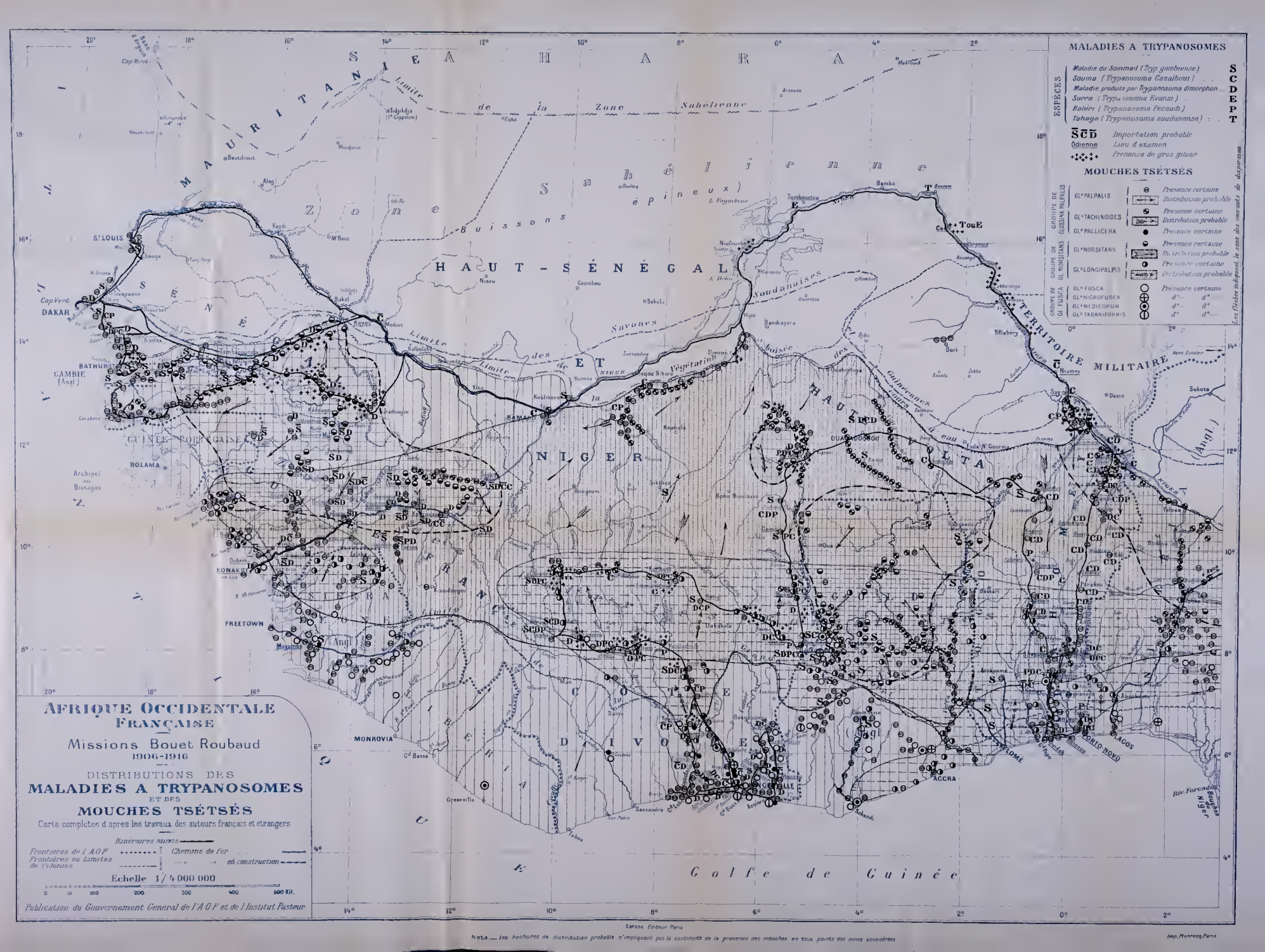
Les différentes zones à *Gl. morsitans* de l'Ouest africain ne sont d'ailleurs pas fixées sans doute d'une manière absolue dans leurs limites géographiques actuelles. Leurs relations étroites avec le gros gibier font que toutes les causes capables de faire varier la distribution géographique ou l'abondance relative de la grande faune sauvage influeront également dans le même sens sur la répartition des glossines de cette espèce. Les grandes épizooties, les chasses, la pénétration par voie ferrée sont appelées à modifier de façon sensible dans l'avenir la configuration et l'étendue relative des zones que nous avons tracées.

Toutes les espèces de glossines sont d'ailleurs susceptibles de présenter, au cours d'une même année, de grandes différences non seulement dans leur abondance relative, mais encore dans leur distribution géographique réelle. Du fait que l'on trouve mentionnée sur la carte l'existence d'une espèce dans une localité déterminée, on ne saurait déduire la présence constante de la mouche en ce point. L'inverse peut être également vrai : que la constatation précise d'une glossine n'ait pas été faite au cours d'un passage dans une localité, cela ne signifie pas qu'elle ne s'y rencontre ou ne s'y rencontrera jamais. Il existe en effet des facteurs de déplacement spontané des glossines, des courants de migration, pour les différentes espèces et dont nous étudierons les causes avant tout saisonnières. Nous avons indiqué par des flèches le sens des migrations pour les quatre espèces sus-mentionnées, dans la direction probable suivant laquelle ils donnent à l'espèce ses maxima d'extension. Nous reviendrons ultérieurement sur cette importante question.

(*A suivre.*)

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.


AFRIQUE OCCIDENTALE FRANÇAISE
Missions Bouet Roubaud
1906-1916
DISTRIBUTIONS DES
MALADIES A TRYPANOSOMES
ET DES
MOUCHES TSÉTSÉS
Carte complétée d'après les travaux des auteurs français et étrangers
Itinéraires suivis
Frontières de l'A.O.F.
Frontières ou Limites de Colonies
Chemins de fer
en construction
Echelle 1/4 000 000
0 50 100 200 300 400 500 Kil.
Publication du Gouvernement Général de l'A.O.F. et de l'Institut Pasteur
MALADIES A TRYPANOSOMES
ESPÈCES
Maladie du Sommeil (Tryp. gambiense)
Souma (Trypanosoma Cazalbouni)
Maladie produite par Trypanosoma dimorphon
Surra (Trypanosoma Evansi)
Baléri (Trypanosoma Pecaudi)
Tahaga (Trypanosoma soudanense)
S C D E P T
SCD Importation probable
Odienne Lieu d'examen
Présence de gros gibier
MOUCHES TSÉTSÉS
GROUPE DE GLOSSINA PALPALIS
Gl. PALPALIS
Gl. TACHINOIDES
Gl. PALLICERA
GROUPE DE GL. MORSITANS
Gl. MORSITANS
Gl. LONGIPALPIS
GROUPE DE GL. FUSCA
Gl. FUSCA
Gl. NIGROFUSCA
Gl. MEDICORUM
Gl. TABANIFORMIS
Présence certaine
Distribution probable
Les flèches indiquent le sens des courants de dispersion
SAHARA
Limite de la Zone Sahélienne
Zone Sahélienne (Buissons épineux)
HAUT-SÉNÉGAL
Savanes Soudanaises
Limite des Végétations
NIGER
HAUTE VOLTA
TERRITOIRE MILITAIRE
GUINÉE PORTUGAISE
GAMBIE (Angl.)
SIERRA LEONE
LIBERIA
COTE D'IVOIRE
Golfe de Guinée
DAKAR
Cap Vert
ST LOUIS
BATHURST
BOLAMA
KONAKRY
FREETOWN
MONROVIA
BAMAKO
OUAGADOUGOU
NIAMEY
TOMBOUCTOU
ACCRA
LAGOS
PORTO NOVO
Archipel des Bissagos
Nota — Les hachures de distribution probable n'impliquent pas la continuité de la présence des mouches en tous points des zones considérées
Larose Éditeur Paris
Imp. Monrocq, Paris

36e ANNÉE NOVEMBRE 1922 N° 11

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR L'ACTION CURATIVE ET PRÉVENTIVE DE L'ACIDE ACÉTYLOXYAMINOPHÉNYLARSINIQUE (190 OU STOVARSOL) ADMINISTRÉ PAR VOIE DIGESTIVE DANS LA SYPHILIS

par C. LEVADITI et L. NAVARRO-MARTIN
pour la partie expérimentale
et L. FOURNIER, L. GUÉNOT et A. SCHWARTZ
pour la partie clinique.

Dans une note présentée à l'Académie des Sciences (1), l'un de nous, en collaboration avec Sazerac, a insisté sur l'utilité d'une prophylaxie de la syphilis par simple *ingestion* d'un médicament spirillicide efficace, plus pratique que les applications locales de pommade [Metchnikoff et Roux (2), Gauducheau (3)], ou les injections préventives [Magian (4), Fournier et Guénot (5), Lacapère (6)]. Des essais réalisés au moyen *de sels solubles de bismuth* (lactate), administrés préventivement par la bouche à des lapins syphilisés, ayant fourni des résultats

(1) Sazerac et Levaditi. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1922, **174**, p. 128.
(2) Metchnikoff et Roux. Ces *Annales*, 1906, **20**, p. 795; Metchnikoff. Ces *Annales*, 1907, **21**, p. 723.
(3) Gauducheau. *Revue d'Hygiène et de Police sanitaire*, 1920, **42**, p. 437.
(4) Magian. *Bull. Acad. de Méd.*, 1919, séance du 20 mai.
(5) Fournier et Guénot. *La Presse Médicale*, 1919, **37**, p. 554.
(6) Lacapère. *Bull. Méd.*, 1919, 29 septembre.

peu satisfaisants, Levaditi et Navarro-Martin (1) se sont adressés aux arsenicaux. Parmi ceux-ci, l'acide *acétyloxyaminophénylarsinique* [Stovarsol (2) ou 190] et son sel sodique leur ont paru les plus indiqués. Ces composés, préparés par M. Tréfouel suivant les indications de M. Fourneau et d'après un plan de recherches exposé par cet auteur en 1921 dans ces *Annales* (3), sont, en effet, stables, facilement maniables, riches en arsenic (20,3 p. 100 pour le sel de soude et 27,2 p. 100 pour l'acide) et relativement peu toxiques. Leur efficacité thérapeutique par voie sous-cutanée, dans la syphilis expérimentale du lapin, est incontestable, ainsi que l'ont démontré Levaditi et Navarro-Martin (4). Il en est de même de l'action antisyphilitique du 190, employé *par voie digestive*.

Nous désirons exposer dans ce travail l'ensemble de nos recherches concernant les propriétés curatives et préventives de l'acide acétyloxyaminophénylarsinique et de son sel de soude, administrés *per os*.

I. — Propriétés curatives dans la syphilis expérimentale.

Dispositif expérimental. — Des lapins porteurs de lésions syphilitiques riches en tréponèmes sont mis à jeun pendant vingt-quatre heures, puis on leur administre, par voie stomacale, des quantités variables de la solution de 190 à 10 p. 100. Examen de l'évolution de la lésion et recherche des spirochètes.

Expérience I. — *Lapin 8-E*, poids : 2.750 grammes, porteur de lésions préputiales riches en *tréponèmes neurotropes*, reçoit, *per os*, 2 grammes de 190. Les tréponèmes disparaissent le deuxième jour; nouvelle ingestion de 2 grammes du même produit. Les *lésions guérissent le quatrième jour* et les spirochètes disparaissent définitivement. *Dose totale : 4 grammes, soit 1 gr. 5 par kilogramme.*

Expérience II. — *Lapin 55-B*, poids : 3.080 grammes, porteur de deux nodules scrotaux (diamètre : 1 cent. 4 et 1 cent. 6) et d'un petit chancre, riches en *tréponèmes dermotropes* (virus Fournier-Schwartz).

(1) Levaditi et Navarro-Martin. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1922, **174**, p. 893.
(2) Ce dérivé, fabriqué sous le nom de *Stovarsol*, se présente sous forme de comprimés de 0 gr. 25.
(3) Fourneau. Ces *Annales*, 1921, **35**, p. 571.
(4) Levaditi et Navarro-Martin. Ces *Annales*, 1922, **36**, p. 46. Ces auteurs se sont servis surtout du sel sodique.

On administre, par la bouche, 2 grammes de 190. Les *tréponèmes disparaissent dès le premier jour.* Les nodules diminuent progressivement. Guérison complète et définitive le huitième jour. *Dose totale* : 2 *grammes, soit* 0 *gr.* 66 *par kilogramme.*

Expérience III. — *Lapin* 45-*O*, poids : 3.150 grammes, porteur de lésions intenses prépuciales et anales, riches en *Spirochæta cuniculi*, reçoit 1 gramme de 190, *per os.* Disparition des spirochètes le deuxième jour et guérison de la lésion le troisième jour. Absence de récidive, aucune perte de poids. *Dose totale* : 1 *gramme, soit* 0 *gr.* 30 *par kilogramme.*

Plusieurs autres expériences analogues, faites avec des doses inférieures (0 gr. 15 par kilogramme), ont fourni des résultats identiques.

Expérience IV. — *Macacus cynomolgus*, *n°* 00, est infecté par scarification des arcades sourcilières, avec du virus d'origine humaine. Douze jours après, lésions locales papulo-érosives renfermant des tréponèmes. Neuf jours après le début de ces lésions, alors que celles-ci contenaient de nombreux tréponèmes, ingestion de 1 gr. 50 de 190. Les lésions se détergent le troisième jour ; nouvelle ingestion de 1 gramme de 190. Disparition des spirochètes le troisième jour et guérison définitive le sixième jour.

Ces expériences montrent que le 190, administré par voie buccale, provoque la guérison rapide et définitive des lésions syphilitiques, tant chez le lapin que chez le singe (*même action sur le* Spirochæta cuniculi). Les tréponèmes disparaissent dès le deuxième ou le troisième jour sans récidive aucune.

Le médicament est toxique *per os* à la dose de 0 gr. 66 par kilogramme ; les animaux succombent tardivement (de dix-neuf à vingt-quatre jours après l'ingestion). Il est au contraire bien toléré, quand la dose administrée ne dépasse pas 0 gr. 30 ou 0 gr. 40 par kilogramme. *La dose thérapeutique par voie digestive*, difficile à établir d'une manière précise, se rapproche de celle qui a été trouvée par voie sous-cutanée (1). Ce fait, ainsi que l'étude de l'élimination de l'arsenic par l'urine, chez l'homme et chez l'animal (analyses de M. et Mme Tréfouel), montrent que le 190 s'absorbe rapidement et en quantité notable par la muqueuse digestive.

II. — Propriétés curatives dans la syphilis humaine.

Nous avons entrepris, parallèlement, des essais thérapeutiques d'après la méthode indiquée ci-dessus, sur des malades aux diverses périodes de la syphilis.

(1) La dose toxique, pour le lapin, par voie sous-cutanée, est de 0 gr. 5 par kilogramme.

1° *Mode de traitement.*

80 syphilitiques ont été traités par l'ingestion de 190 sous forme de comprimés de 0 gr. 25, donnés le matin à jeun, délayés dans un peu d'eau, à la dose de 4 comprimés, soit 1 gramme de produit, et par périodes de cinq à sept jours, séparées par des intervalles d'égale durée, de façon à atteindre la dose totale de 12 à 16 *grammes* dans le premier mois (1).

Nous avons varié l'administration du médicament (par exemple : 1 gramme tous les deux jours pendant une semaine, repos de trois ou quatre jours, puis reprise du traitement) afin de réaliser, d'une part, la meilleure imprégnation arsenicale de l'organisme et, d'autre part, afin d'éviter les effets d'accumulation. Les expériences de M. et Mme Tréfouel, dans le laboratoire de M. Fourneau, montrent, en effet, que l'élimination de l'arsenic, abondante les deux ou trois premiers jours de l'absorption du 190, diminue les jours suivants de façon très notable, les doses absorbées restant les mêmes. Les effets thérapeutiques se sont montrés à peu près identiques, quel qu'ait été le mode d'administration du médicament.

Très bien accepté par les malades, car il n'a aucun goût, le 190, ingéré avec un peu d'eau, n'a déterminé chez aucun d'eux d'accidents sérieux. Dans quelques cas, le premier jour de la cure, on observe une réaction fébrile plus ou moins intense (38° à 39°5), ordinairement de courte durée et qui ne se reproduit pas les jours suivants. Cette réaction apparaît, nous a-t-il semblé, surtout chez les malades ayant mangé trop tôt après l'absorption des comprimés, ou chez ceux présentant quelques légers signes d'embarras gastrique. Un purgatif la veille de la cure est donc, quelquefois, nécessaire.

La réaction fébrile ne s'est, d'autre part, jamais produite lorsque le 190 a été donné à faible dose (0 gr. 50 à 0 gr. 75) le premier jour de la cure.

Dans deux cas, l'apparition de poussées érythémateuses et urticariennes au niveau de la face et au bras, à chaque ingestion de 190, nous fit interrompre le traitement. Enfin, et c'est

(1) Au début, nous avons employé le sel sodique; nous l'avons remplacé ultérieurement par l'acide (*Stovarsol*).

le seul accident notable que nous ayons observé, chez une malade cholémique, présentant une poussée très intense d'accidents secondaires, et ayant pris une dose totale de 16 gr. 75 de 190 en vingt-cinq jours, est apparu un exanthème généralisé intense, analogue à ceux que déterminent les injections intraveineuses d'arsenicaux organiques. Cet exanthème dura un mois.

Aucun de nos malades n'a présenté d'albuminurie notable.

2° *Effets thérapeutiques.*

a) Action sur les lésions syphilitiques. — Dans un grand nombre de cas, le 190 exerce sur les accidents érosifs ou ulcéreux, primaires, secondaires ou tertiaires, une action tout à fait remarquable, souvent aussi rapide que celle des injections massives d'arsénobenzol, telles qu'on les pratiquait au début de l'arsénothérapie. Le tréponème disparaît ordinairement en vingt-quatre ou quarante-huit heures de la surface des lésions.

Dans 30 *cas de syphilis primaire*, la cicatrisation du chancre a été obtenue en cinq à quinze jours ; l'induration a diminué rapidement et a même souvent complètement disparu par la suite. Parallèlement, les adénopathies se sont amoindries et ont également fini par se résorber.

L'action sur *les accidents secondaires* (42 *cas*) n'a pas été moins rapide, ni moins favorable : après quelques jours de traitement, nous avons vu s'effacer la roséole et s'assécher les syphilides érosives de la peau et des muqueuses. Les plaques hypertrophiques et les éléments papuleux, plus lents à disparaître, se sont néanmoins le plus souvent aplatis et considérablement améliorés après la première semaine.

Mêmes résultats très remarquables dans *les lésions tertiaires* (8 *cas*). Nous avons vu, par exemple, s'effacer et se cicatriser en une dizaine de jours une syphilide ulcéro-croûteuse, serpigineuse, couvrant toute la région scapulaire gauche, chez un malade de soixante ans. Une énorme gomme ulcérée de la région sous-claviculaire, à fond sphacélé, de 6 à 7 centimètres de diamètre et de 3 à 4 centimètres de profondeur, inspirant des inquiétudes pour les vaisseaux sous-claviculaires, s'est détergée en six jours et complètement comblée et cicatrisée en un mois.

L'action curative du 190 sur les *lésions syphilitiques superficielles* s'est donc montrée, en général, merveilleusement rapide. Nous avons, toutefois, observé quelques exceptions : chez deux malades, porteurs de chancres syphilitiques, les tréponèmes n'avaient pas disparu après six et huit jours de traitement, et les lésions ne montraient aucune tendance à la cicatrisation. Ces deux malades furent soumis, avec succès, à la médication bismuthée. Dans deux autres cas, la roséole et les éléments papuleux ne semblèrent que peu influencés ; le résultat fut encore assez médiocre chez un malade présentant une gomme du sternum, et dans un cas d'*iritis*, qui ne fut guère amélioré par le traitement.

b) Action sur l'évolution de la syphilis et sur la réaction de fixation. — Si, en dehors de ces derniers cas, l'action superficielle cicatrisante du 190 s'est montrée aussi rapide et aussi puissante que celle de n'importe quelle autre médication antisyphilitique, par contre, son action profonde, stérilisante a été assez souvent médiocre.

Quatre fois les accidents secondaires reparurent une ou deux semaines après la première cure ; six fois la rechute se produisit au bout d'un ou deux mois. Nous avons observé un cas de *neuro-récidive* (paralysie faciale) et un cas de réapparition d'accidents secondaires avec ictère.

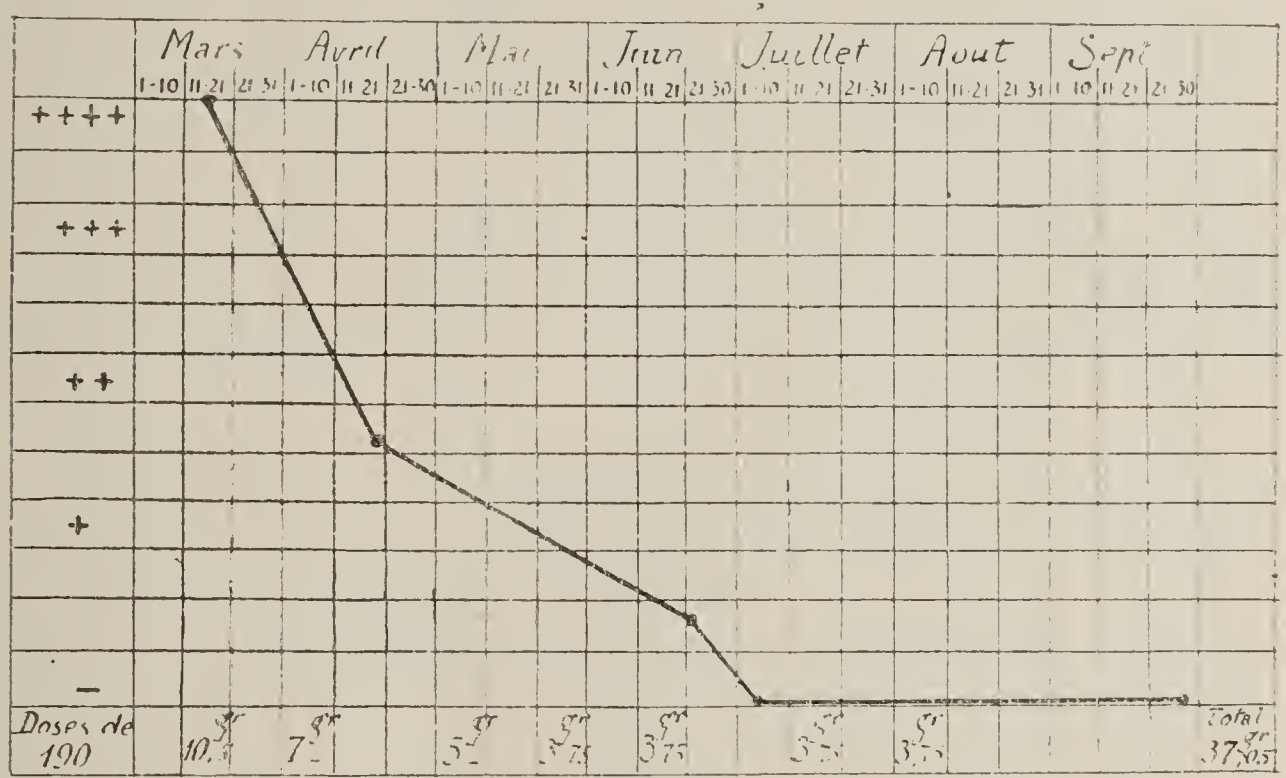
Dix fois seulement, et sans qu'on puisse parler de guérison définitive, les résultats thérapeutiques ont été tout à fait satisfaisants, et la réaction de Bordet-Wassermann est devenue et restée négative.

L'action profonde du 190 est donc tout à fait inconstante et très variable suivant les malades, plus inconstante et plus variable que celle des autres arsenicaux. Mais il y a lieu de remarquer ici que, volontairement d'ailleurs, le traitement n'a jamais été intensifié ; que, par conséquent, les résultats étaient incomplets, et que chez bien des malades, une meilleure technique dans l'administration du 190 aurait probablement enrayé d'une façon plus efficace l'évolution de la syphilis. Nous ferons remarquer, encore une fois, qu'il ne s'agit que du traitement par la bouche, c'est-à-dire de conditions plutôt défavorables.

Des essais sont en cours qui établiront le degré d'efficacité du médicament par d'autres voies.

c) Action sur l'état général. — Nous retrouvons ici, et parfois très marquée, l'action favorable des arsenicaux organiques sur l'état général des malades : disparition de l'anémie, reprise des forces et de l'embonpoint. La commodité de l'emploi du 190 nous l'a d'ailleurs fait utiliser avec succès, dans nombre de cas pathologiques en dehors de la syphilis.

Observation I. — *Cran...*, quarante-sept ans. 12 *mars*. Chancre du prépuce, début il y a trois semaines après une incubation de trente-cinq jours.



Courbe 1.

Adénopathie inguinale gauche. Tréponèmes constatés. Bordet-Wassermann : ++++.

Traitement. — Du 12 au 19 mars, 10 gr. 50 de 190 (sel de soude); du 25 mars au 8 avril, 7 gr. 50 ; du 28 avril au 5 mai, 5 grammes de 190 (acide); du 23 au 31 mai, 3 gr. 75 (*id.*); du 16 au 24 juin, 3 gr. 75 (*id.*) ; du 10 au 18 juillet, 3 gr. 75 (*id.*) ; du 1er août au 9 août, 3 gr. 75 (*id.*). *Dose totale* : 37 grammes.

Résultats. — Le 14 mars, tréponèmes : 0 ; la cicatrisation du chancre commence ; cicatrisation complète le 20 mars. Diminution considérable de l'induration et de l'adénopathie.

3 avril. Bon état général, traitement très bien supporté; pas le moindre trouble digestif, albumine : 0. Pas d'accidents secondaires.

19 avril. Bordet-Wassermann : *légèrement positif.*

28 avril. Induration chancreuse et adénopathie complètement disparues.

22 mai. Bordet-Wassermann : *négatif.*

5 juillet. Bordet-Wassermann : *négatif.*

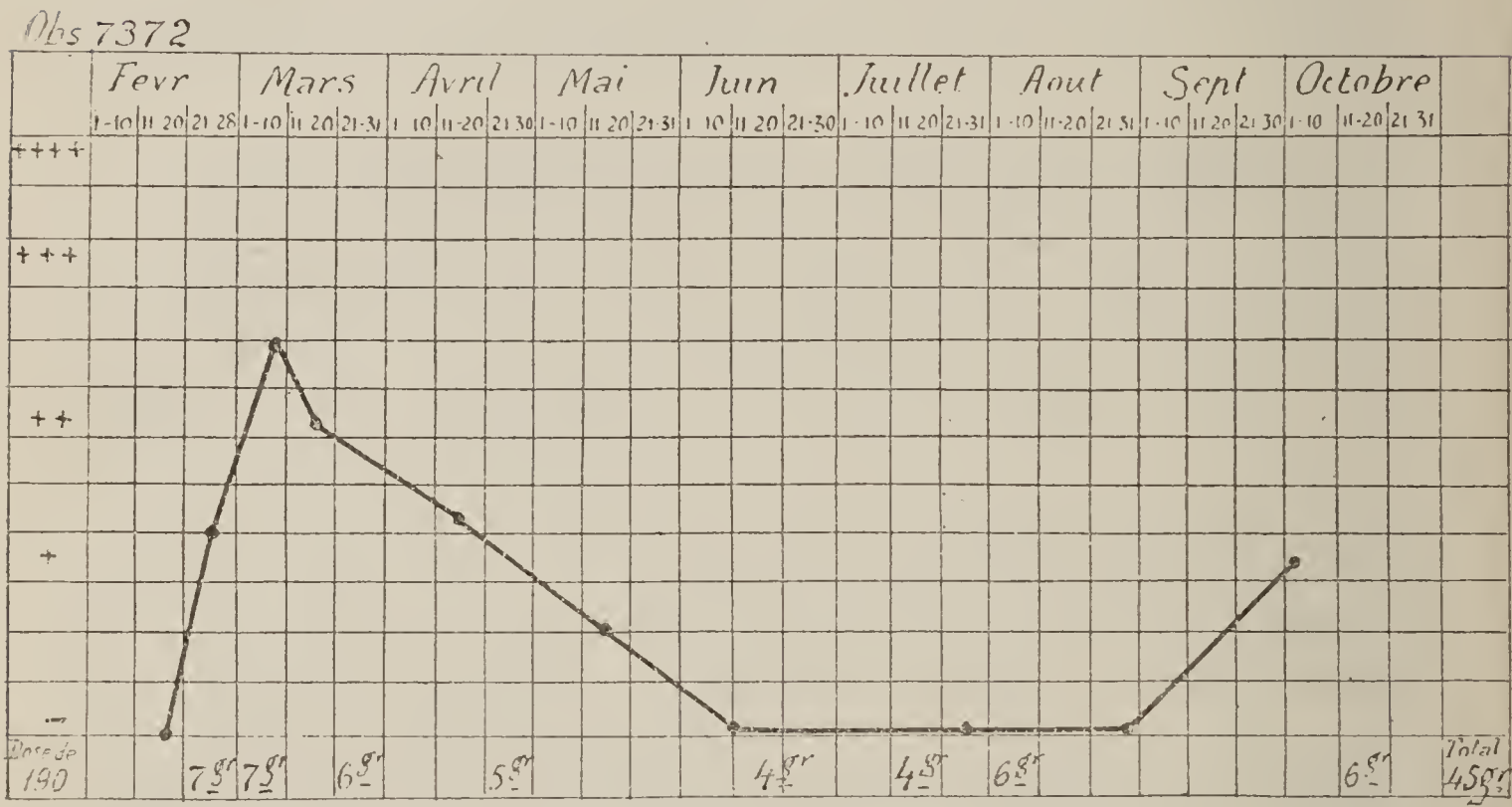
27 septembre. Très bon état général. Aucun accident spécifique. Bordet-Wassermann : *négatif* (Voy. courbe 1).

Observation II. — *Vin...* (7372). 19 *février*. Chancre syphilitique du sillon balano-prépucial. Début quinze jours. Adénite inguinale bilatérate. Tréponèmes, +++; Bauer, négatif.

Traitement. — Du 19 au 25 février 7 grammes de 190 (sel sodique); du 6 au 11 mars, 7 grammes: du 24 au 30 mars, 6 grammes; du 25 au 28 avril, 5 grammes; du 19 au 25 juin, 4 grammes; du 10 au 14 juillet, 4 grammes; du 1er au 11 août, 6 grammes; du 11 au 15 octobre, 6 grammes. *Dose totale* : 45 grammes.

Résultats. — Tréponèmes : 0 le 21 février; chancre complètement cicatrisé le 1er mars.

19 *mars*. Traitement très bien supporté. Augmentation de poids : 3 kilo-



Courbe 2.

grammes. Très bon état général. Adénopathie droite encore un peu perceptible; induration très légère au niveau de la cicatrice du chancre. Pas d'accidents secondaires.

La réaction de Bordet-Wassermann devenue franchement positive le 27 février et le 4 mars, diminue progressivement par la suite et devient complètement négative le 11 juin, le 23 juillet, le 27 août; douteuse le 2 octobre.

Aucun accident syphilitique (courbe 2).

Observation III. — *Zib...* (7445). 21 *mai*. Chancre syphilitique du gland; début quinze jours. Adénopathie inguinale droite. Tréponèmes +. Bordet-Wassermann : *positif*.

Traitement. — 1 gramme de 190 par jour; du 21 au 28 mai, 7 grammes; du 2 au 8 juin, 6 grammes; du 17 au 22 juin, 5 grammes; du 1er au 7 juillet, 5 grammes; du 16 au 23 juillet, 6 grammes; du 4 au 16 août, 9 grammes; du 28 août au 5 septembre, 6 grammes; du 11 au 19 septembre, 5 grammes. *Dose totale* : 49 grammes.

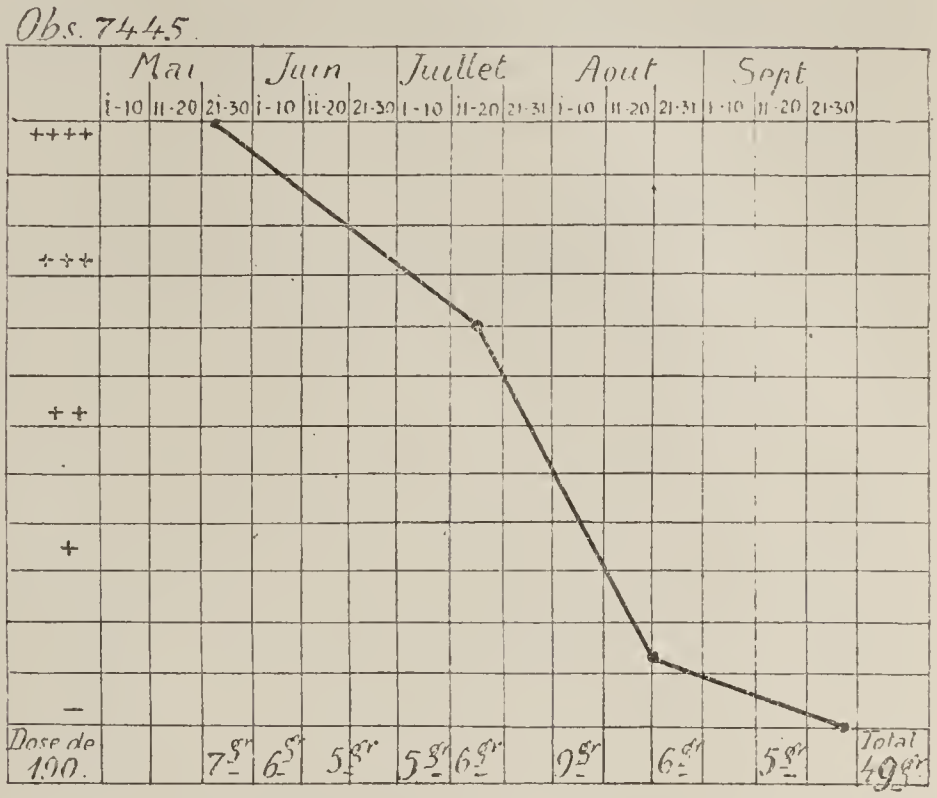
Résultats. — 23 mai. Tréponèmes : 0.

1er juin. Chancre diminué de moitié, en voie de cicatrisation. Adénopathie minime.

1er juillet. Aucun accident. Bordet-Wassermann : +.

1er août. Aucun accident secondaire, Bordet-Wassermann : —.

24 septembre. Très bon état général. Pas d'accident. Bordet-Wassermann : *complètement négatif* (courbe 3).



Courbe 3.

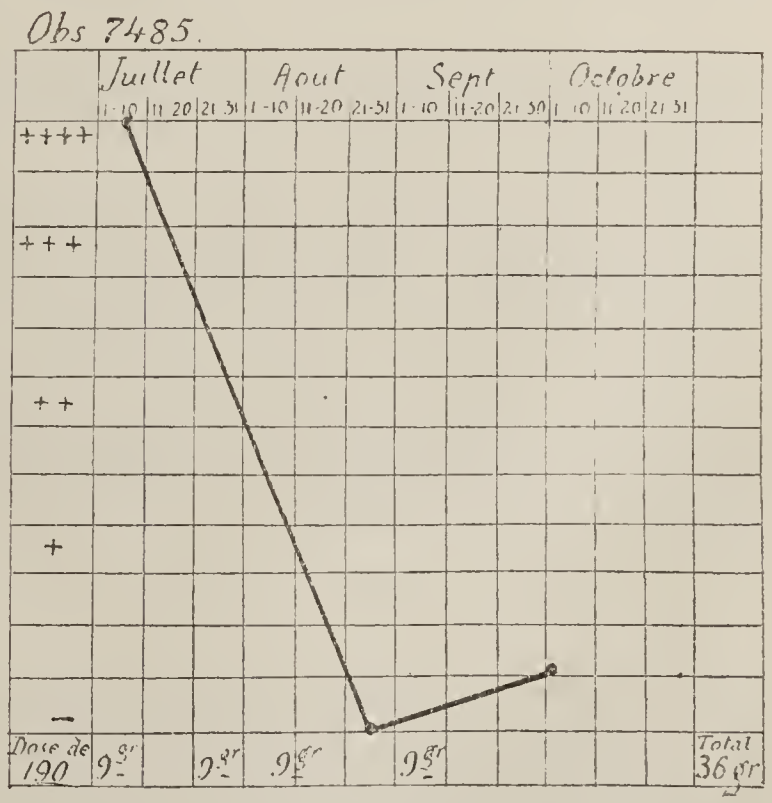
Observation IV. — *Gent...* (7485). 8 *juillet.* Chancre syphilitique du sillon balano-préputial. Grosse induration, début il y a un mois. Adénopathie inguinale. Roséole intense. Bordet-Wasserm. : *positif.*

Traitement. — 1 gr. de 190 par jour, par période de trois jours, avec un jour d'intervalle entre chacune d'elles. Du 8 au 19 juillet, 9 grammes; du 22 juillet au 2 août, 9 grammes; du 15 au 26 août, 9 grammes; du 10 au 21 septembre, 9 grammes. *Dose totale* : 36 grammes.

Résultats. — Chancre complètement cicatrisé le 19 juillet; la roséole a presque disparu. Traitement parfaitement supporté.

30 août. Bordet-Wassermann : *négatif.* Aucun accident syphilitique.

1er octobre. Très bon état général; aucun accident syphilitique. Bordet-Wassermann : *négatif* (un peu douteux dans deux tubes) [courbe 4].



Courbe 4.

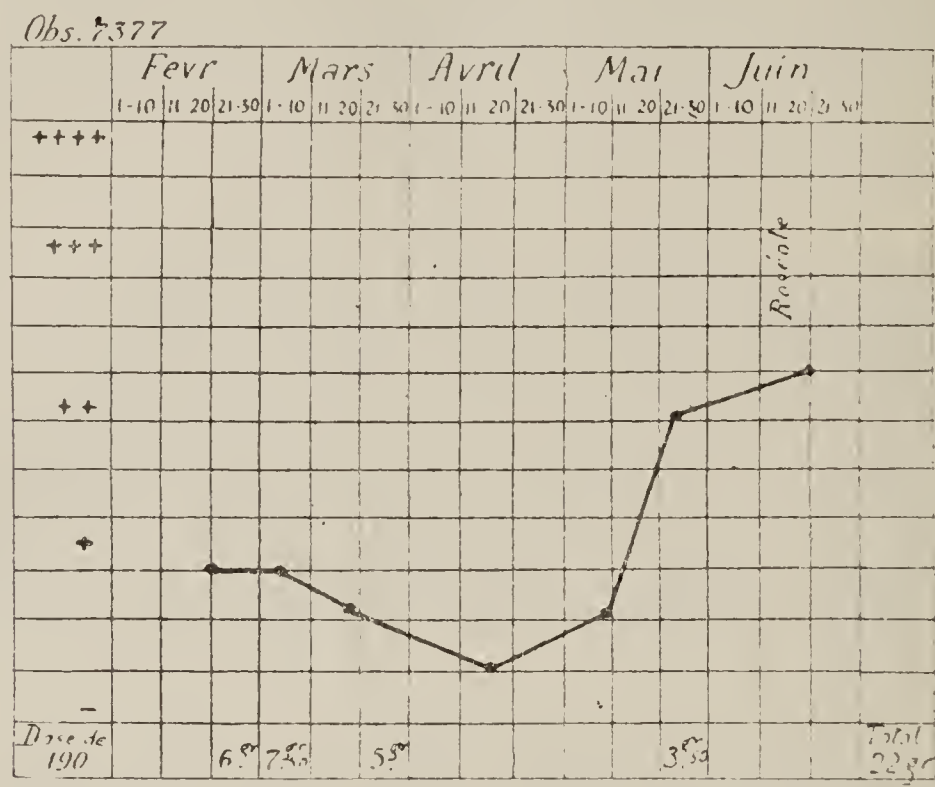
Observation V. — *Bert....* (7377). 20 *février.* Chancre syphilitique du menton. Début, 15 jours. Grosse adénopathie sous-mentonnière. Tréponèmes abondants. Bordet-Wassermann : *légèrement positif.*

Traitement. — Du 20 au 24 février, 6 grammes de 190 (sel de soude); du 6 au 12 mars, 7 grammes; du 23 au 28 mars, 5 grammes; pas de traitement en avril; du 28 mai au 5 juin, 3 gr. 50. *Dose totale* : 22 grammes.

Résultats. — Le 22 février, tréponèmes : 0; le 1er mars, chancre complètement cicatrisé ; adénite considérablement diminuée.

2 avril. Bon état général, pas d'accidents secondaires.

17 avril. Bordet-Wassermann *négatif*; celui-ci redevient positif le 22 mai, le malade n'ayant eu aucun traitement depuis le 28 mars. Malgré 3 gr. 50 de



Courbe 5.

190 du 28 mai au 5 juin, la roséole apparaît le 11 juin. Le malade est soumis au traitement bismuthé (Trépol) (courbe 5).

Observation VI. — *Rad...* (7395). 18 mars. Chancre induré du sillon balano-préputial, datant de six à huit jours. Adénite inguinale gauche très accentuée. Tréponèmes +. Bordet-Wassermann : *négatif.*

Traitement. — Du 18 au 25 mars, 10 gr. 50 de 190 (sel de soude); du 31 mars au 6 avril, 7 gr. 50. *Dose totale* : 18 gr.

Résultats. — Pas de modification du chancre et tréponèmes toujours présents à la fin de la première cure, le 26 mars. Le 28 mars, angine pultacée, la température s'élève jusqu'à 40°. Le 30 mars, chancre en voie de cicatrisation.

16 avril. Chancre *redux*. Le malade est traité par le bismuth (Trépol).

Observation VII. — *Oud...* (7397). 18 *mars.* Chancre syphilitique du prépuce ; début il y a un mois. Adénite inguinale droite. Pas d'accidents secondaires. Tréponèmes +. Bordet-Wassermann : *positif.*

Traitement. — Du 18 au 26 mars, 10 gr. 50 de 190 (sel de soude); du 28 au 31 mars, 4 gr. 50; du 3 au 6 avril, 4 gr 50. *Dose totale*: 19 gr. 50.

Résultats. — Aucune modification du chancre; tréponèmes toujours abondants. Le 1er avril, *apparition de la roséole.* On fait alors quatre injections intraveineuses de 914 : 20 cent. cubes, 30 cent. cubes, 45 cent. cubes, 45 cent. cubes.

21 avril. Aucune modification du chancre; tréponèmes toujours présents; roséole érythémato-papuleuse intense.

Ce malade est soumis, avec succès, au traitement bismuthique.

III. — Action préventive dans la syphilis expérimentale (1).

Dispositif expérimental. — Des lapins étaient infectés par scarification du prépuce avec notre virus neurotrope, ou par scarification et insertions scrotales avec le tréponème dermotrope (*souches Truffi et Fournier-Schwartz*). A des intervalles plus ou moins rapprochés, on administrait à ces animaux (à jeun depuis vingt-quatre heures), par voie gastrique, des doses variables de 190. D'autres lapins, non traités, servaient de témoins. En outre, on accouplait pendant trois à quatre jours des lapins mâles infectés (*virus Pg*) avec des femelles neuves (2) : les femelles, soumises à la contagion par simple contact sexuel, recevaient, le lendemain de l'accouplement, le 190 par voie stomacale.

RÉSULTATS

I. Procédé de la scarification ou de l'insertion scrotale.

a) Expériences faites a l'Institut Pasteur. — Trois séries avec le *virus Pg*, deux séries avec le *virus Truffi*,

1° **Virus Pg.** — Dans la *première série*, deux animaux ont reçu, l'un 0 gr. 70 de 190 par kilogramme, *deux heures* après l'infection ; l'autre 1 gr. 4 par kilogramme, en deux fois, *deux et vingt-quatre heures* après la scarification. Le témoin montre des tréponèmes le vingt-quatrième jour, les deux animaux traités préventivement restent indemnes (70 jours d'observation).

Dans la *seconde série*, un lapin reçoit 0 gr. 16 par kilogramme après *six heures*, deux autres 0 gr. 33 par kilogramme après le même laps de temps. Le témoin s'infecte le vingt-huitième jour, les trois lapins traités ne contractent pas la maladie.

Dans la *troisième série*, deux lapins reçoivent 0 gr. 25 par kilogramme après *cinq heures*, trois autres la même dose après *vingt-trois heures*. Le témoin montre des spirochètes le vingt-deuxième jour, les animaux traités préventivement restent indemnes.

(1) Fournier, Levaditi, Navarro-Martin et Schwartz. *C. R. Acad. des Sc.*, 1922, **174**, p. 1350.

(2) Nous avons montré ailleurs (Levaditi, Marie et Banu. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1920, **170**, p. 102) que les lésions syphilitiques à virus neurotrope se transmettent parfaitement bien par contact sexuel, chez le lapin. Nos statistiques, établies sur un grand nombre d'expériences, montrent que, dans ces conditions, la transmission de l'infection (virus Pg) s'effectue dans une proportion d'au moins 60 p. 100 des cas.

2° **Virus Truffi.** — Dans la *première série*, deux animaux reçoivent 0 gr. 18 et 0 gr. 23 par kilogramme après deux heures ; deux autres 0 gr. 21 et 0 gr. 22 après diz-neuf heures. Aucun ne montre de lésions spirochétiennes (quarante-trois jours d'observation).

Dans la *seconde série*, qui comporte trois lapins, la quantité donnée fut de 0 gr. 1 par kilogramme après vingt-quatre heures : même résultat.

Le tableau suivant résume ces données (p. 741).

b) Expériences faites a l'hôpital Cochin. — Huit lapins ont été infectés par scarification au scrotum, avec le virus Fournier-Schwartz ; deux d'entre eux ont reçu, *per os*, quarante-huit heures après la scarification, 0 gr. 35 par kilogramme ; deux autres la même dose sept jours après. Les animaux traités sont restés indemnes, tandis que trois témoins ont montré, quatre et six semaines après, des lésions scrotales riches en tréponèmes.

II. — Procédé de l'accouplement.

Expérience I. — Quatre femelles ont été accouplées avec des mâles porteurs de belles lésions spirochétiennes (*virus Pg*), puis traitées préventivement avec 0 gr. 5, 1 gramme, 2 grammes de 190 *per os*. Le médicament a été administré le deuxième jour après l'accouplement. Les couples ont été maintenus en contact pendant quatre jours.

Résultat. — Aucune des femelles n'a contracté l'infection (trente-cinq, quarante-six et soixante-quatre jours d'observation).

Expérience II. — La *femelle normale* 43-*B* est accouplée le 18 avril 1922 avec *le mâle* 50-*Bc*, porteur de belles lésions préputiales (*virus Pg*). La femelle reçoit, *per os*, le lendemain de l'accouplement, 0 gr. 15 de 190 par kilogramme *Résultat : pas de contamination pendant soixante-quinze jours d'observation (absence de fécondation).*

Expérience III. — La *femelle normale* 44-*B* est accouplée le 18 avril 1922, avec *le mâle* 78-*M*, porteur de belles lésions préputiales (*virus Pg*). La femelle reçoit, *per os*, 0 gr. 15 de 190 par kilogramme, le lendemain de l'accouplement. *Résultat : pas de contamination pendant soixante-quinze jours d'observation ; fécondation et mise bas de 2 petits.*

Expérience IV. — La *femelle normale* 53-*B* est accouplée le 14 avril 1922 avec le *mâle infecté* 3-*M*. Elle reçoit, *per os*, le lendemain de l'accouplement, 0 gr. 1 de 190 par kilogramme. *Résultat : aucune contamination de la femelle pendant cinquante-six jours d'observation. Fécondation et mise bas de 5 petits.*

Expérience V. — La *femelle* 52-*Mc* porteuse de belles lésions vaginales (*virus Pg*) est accouplée le 18 avril 1922 avec *le mâle normal* 1-*O*. Celui-ci reçoit, le lendemain de l'accouplement, 0 gr. 15 de 190 par kilogramme *per os. Résultat : aucune contamination du mâle (soixante jours d'observation) ; la femelle met bas 3 petits.*

Deux autres expériences analogues (femelle neuve et mâle contaminé, dose de 190 *per os* : 0 gr. 15 par kilogramme) ont fourni des résultats semblables (absence de contamination, pas de fécondation).

Conclusions. — Il résulte de l'ensemble de ces recherches que *l'acide acétyloxyaminophénylarsinique jouit de propriétés pré-*

	DATE	NUMÉRO des lapins	DOSE par kilogramme	TEMPS ÉCOULÉ entre l'infection et l'administration du médicament	VIRUS	TEMPS d'observation	RÉSULTATS
Ire série Pg	3 février . . .	15-O	*Témoin*	»	Pg	24 jours.	*Positif.*
	3 — . . .	10-O	0,7 p. 1.000	2 heures.	Pg	24 —	*Zéro.*
	3 — . . .	4-O	1,4 p. 1.000	2 et 24 —	Pg	70 —	Zéro.
IIe série Pg	21 — . . .	19-B	*Témoin*	»	Pg	28 —	*Positif.*
	21 — . . .	100-M	0,16 p. 1.000	6 heures.	Pg	52 —	Zéro.
	21 — . . .	16-B	0,33 p. 1.000	6 —	Pg	52 —	Zéro.
	21 — . . .	14-B	0.33 p. 1.000	6 —	Pg	52 —	Zéro.
IIIe série Pg	7 mars	3-M	*Témoin*	»	Pg	22 —	*Positif.*
	7 —	7-M	0,25 p. 1.000	5 heures.	Pg	38 —	Zéro.
	7 —	9-M	0,25 p. 1.000	5 —	Pg	40 —	Zéro.
	7 —	6-M	0,25 p. 1.000	23 —	Pg	49 —	Zéro.
	7 —	7-O	0,25 p. 1.000	23 —	Pg	38 —	Zéro.
	7 —	1-M	0,25 p. 1.000	23 —	Pg	40 —	Zéro.
Ire série Truffi	3 —	62-B	0,23 p. 1.000	2 —	Truffi	43 —	Zéro.
	2 —	63-B	0,18 p. 1.000	2 —	Truffi	43 —	Zéro.
	2 — . . .	65-B	0,22 p. 1.000	19 —	Truffi	43 —	Zéro.
	2 —	69-B	0,21 p. 1.000	19 —	Truffi	43 —	Zéro.
IIe série Truffi	1er avril . . .	41-Am	0,1 p. 1.000	24 —	Truffi	59 —	Zéro (1).
	1er — . . .	40-Am	0,1 p. 1.000	24 —	Truffi	76 —	Zéro.
	1er — . . .	49 Am	0,1 p. 1.000	24 —	Truffi	59 —	Zéro.

(1) Ce lapin a fini par contracter la maladie, après une incubation très longue (75 jours).

ventives manifestes à l'égard de l'infection expérimentale par le TREPONEMA PALLIDUM (*variété dermotrope et neurotrope*). Administré par voie digestive *deux heures*, *six heures*, *douze heures*, *vingt-quatre heures*, *deux jours* et même *sept jours* après l'inoculation des lapins avec des quantités massives de ces virus, il empêche l'éclosion de la maladie. La dose *minima* active essayée dans nos expériences a été de 0 gr. 1 par kilogramme.

L'efficacité prophylactique de ce médicament, appliqué PER OS, *apparaît également chez les animaux soumis à la contamination par simple contact sexuel.* Des lapins exposés à une telle contamination (virus neurotrope) n'ont pas contracté la maladie, si, le lendemain de l'accouplement, on leur administrait, par voie digestive, de 0 gr. 1 à 0 gr. 15 de 190 par kilogramme. Plus encore, certaines femelles ont été fécondées par des mâles contaminés et ont mis bas des rejetons viables, quoiqu'elles aient absorbé des quantités relativement considérables du dérivé acétylé ; elles ont été mises ainsi à l'abri de l'infection spirochétienne. *L'expérience sur l'animal met donc hors de doute les propriétés prophylactiques du 190.* Que nous enseignent, à ce sujet, les essais faits sur l'homme ?

IV. — Action préventive dans la syphilis humaine.

Un premier essai, relaté dès le début de ces recherches, par Levaditi et Navarro (1), montrait qu'au point de vue prophylactique, le 190 agissait de la même manière chez l'homme et chez l'animal. Le voici, en résumé :

A la suite des expériences de Levaditi et Navarro, X..., âgé de vingt-cinq ans, s'est offert à être scarifié aux deux bras, avec du virus syphilitique dermotrope, le 3 février 1922 (infection massive). Le même virus a servi à inoculer, aux arcades sourcilières, le *Macacus cynomolgus* n° 13. X... reçoit, *deux heures et demie* et *seize heures* après la scarification, 2 grammes de 190 par la bouche (en tout 4 grammes).

Le macaque montre des lésions papuleuses le dixième jour, lésions qui augmentent progressivement dans la suite. X... n'a présenté aucun accident local pendant quarante-sept jours d'observation. La réaction de Bordet-Wassermann est restée continuellement négative.

Forts de ce résultat nettement positif, nous avons tenté un

(1) LEVADITI et NAVARRO. *Loc. cit.*

second essai, sur une autre personne qui s'est offerte bénévolement.

Un sujet, âgé de trente-deux ans, n'ayant jamais eu la syphilis et dont la réaction de Bordet-Wassermann était négative, s'offre à être inoculé, par scarification aux deux bras, avec du virus syphilitique (une scarification analogue est pratiquée au même moment, aux arcades sourcilières d'un *Macacus cynomolgus n°* 11). *Cinq heures* après la scarification, on administre par la bouche au sujet scarifié 2 grammes de 190. Aucun trouble apparent.

Résultat : *Le* Macacus cynomolgus *montre des lésions spirochétiennes le onzième jour*; *le sujet traité préventivement est indemne de toute lésion après plusieurs mois d'observation. La réaction de Bordet-Wassermann reste indéfiniment négative.*

Conclusion. — Ces deux essais montrent que *l'acide acétyloxyaminophénylarsinique, administré par la bouche, à la dose de 2 à 4 grammes, de deux heures et demie à cinq heures après une scarification infectante massive, protège l'homme de l'infection syphilitique.*

*
* *

Même efficacité dans plusieurs cas de contamination sexuelle, sinon certaine, du moins très probable. Quelques observations recueillies dans le service de l'un de nous, à l'hôpital Cochin, nous paraissent posséder une valeur démonstrative incontestable. Les voici :

Observation I. — *Mme C...*, dont le mari présente un chancre syphilitique du prépuce âgé de trois semaines (nombreux tréponèmes), a eu, avec lui, des rapports sexuels. A l'examen clinique, aucune lésion suspecte chez elle (Bordet-Wassermann *négatif*). On lui administre, en deux séries de trois jours, 7 grammes de 190, à raison de 1 gramme à 1 gr. 50 par jour. Aucun accident par la suite, Bordet-Wassermann *négatif*.

Observation II. — *Mme D...*, chancre syphilitique du prépuce chez le mari, avec lequel elle a eu plusieurs rapports sexuels. Aucune lésion à l'examen, réaction de Bordet-Wassermann *négative*. On lui administre 6 grammes de 190, en cinq jours, *per os*. Aucun accident par la suite. Le Bordet-Wassermann *reste négatif*.

Observation III. — *Mme Mast...* 12 *mars*. Aucun antécédent, trois enfants bien portants. Rapports sexuels avec son mari, porteurs de deux chancres herpétiformes (tréponèmes constatés).

Examen clinique. — Vulve, vagin, col utérin, régions péri-génitales : aucune lésion suspecte. Bordet-Wassermann *complètement négatif*.

Traitement, — 1 gramme de 190 (sel de soude) les 12, 13, 14 et 15 mars. *Dose totale* : 4 grammes.

24 avril. — Bordet-Wassermann *complètement négatif*. Aucun accident, aucune lésion suspecte par la suite.

Observation IV. — *Mme Pru...*, vingt ans. 19 *juin*. Aucun antécédent. Rapports sexuels avec son mari atteint d'un chancre syphilitique (tréponèmes constatés).

Examen clinique. — Aucune lésion suspecte (vulve, vagin, col utérin, etc.). Bordet-Wassermann *négatif*.

Traitement. — 3 comprimés de 190 les 1, 2 et 3 juillet, puis les 6, 7, 8 et 9 juillet, puis les 17, 18, 19 et 20 juillet (8 gr. 25 en tout).

Aucun accident par la suite. Bordet-Wassermann *négatif* le 5 juillet, le 20 juillet, le 11 octobre.

Observation V. — *Mme Ver...* 14 *juin*. Aucun antécédent. Rapports sexuels avec son mari atteint de chancre syphilitique (tréponèmes constatés), datant de quinze jours.

Examen clinique. — Aucune lésion suspecte (vulve, vagin, col utérin, etc.). Bordet-Wassermann *complètement négatif*.

Traitement. — 3 comprimés de 190 les 15, 17, 19 juin (2 gr. 25); puis 3 comprimés les 26, 28 et 30 juin (2 gr. 25); puis 3 comprimés les 8, 9, 11 et 12 juillet (3 grammes). *Dose totale* : 7 gr. 50.

Par la suite aucun accident syphilitique. Bordet-Wassermann *complètement négatif* le 7 juillet et le 30 juillet.

Observation VI. — *Mme Maur...* 4 *juin*. Aucun antécédent. Derniers rapports avec son mari la veille du jour où celui-ci s'aperçoit de son chancre syphilitique (tréponèmes constatés).

Examen clinique. — Aucune lésion suspecte. Bordet-Wassermann *négatif*.

Traitement. — Du 4 au 12 juin, 4 gr. 50 de 190.

29 juillet. — Bordet-Wassermann *complètement négatif*. Aucun accident par la suite

Observation VII. — *Mme Tib...*, vingt ans. Aucun antécédent. Rapports sexuels avec son mari, porteur d'un chancre syphilitique du prépuce.

5 juin. — *Examen clinique*. Aucune lésion suspecte des organes génitaux externes, des régions péri-génitales, du vagin, du col utérin. Bordet-Wassermann *complètement négatif*.

Traitement. — 3 comprimés de 190 les 6, 7 et 8 juin ; puis les 12, 13, 14 juin (4 gr. 50 en tout).

19 juin. — Aucune lésion suspecte. Bordet-Wassermann *complètement négatif* le 26 juin et le 24 juillet. Aucun accident par la suite.

Observation VIII. — *Mme Saut,..* Aucun antécédent. Rapports sexuels avec son mari, porteur d'un chancre syphilitique de vingt jours (tréponèmes constatés).

22 août. — *Examen clinique*. Aucune lésion suspecte. Bordet-Wassermann *négatif*

Traitement. — Du 23 au 30 août, 6 grammes de 190, puis 5 grammes du 6 au 10 septembre. *Dose totale*: 11 grammes.

28 septembre. — Bordet-Wassermann *complètement négatif*. Aucun accident syphilitique par la suite.

Observation IX. — *Mme Pin..* Rapports sexuels avec son mari, porteur d'un chancre syphilitique de dix jours (tréponèmes constatés).

Examen clinique. — Aucune lésion suspecte. Bordet-Wassermann *négatif.*
Traitement. — 1 gramme de 190 par jour les 4, 5, 7, 8, 10, 12 septembre (6 grammes) ; puis 0 gr. 75 le 26, et 1 gramme les 27, 28 et 29 septembre (3 gr. 75). *Dose totale* : 9 gr. 75.
11 octobre. — Aucun accident syphilitique. Bordet-Wassermann *négatif.*

V. — Conclusions.

1° Au point de vue prophylactique :

a) *Le* 190, *administré par la bouche* (*dose minima active essayée : 0 gr. 1 par kilogramme*) *de deux heures à sept jours après une infection massive, préserve le lapin et le singe de l'infection spirochétienne* (virus dermotrope et neurotrope).

b) *Son efficacité prophylactique apparaît également chez le lapin soumis à la contamination par simple contact sexuel.*

c) *Les essais sur l'homme confirment ces données expérimentales. Ils prouvent que, à la dose de* 2 *grammes, administrée cinq heures après une infection massive, le* 190, *pris par la bouche, préserve de la contamination.* Dans les cas de contagion par contacts sexuels répétés, une cure de 4 grammes à 7 grammes pendant cinq et six jours a prévenu la maladie qui, sans ce traitement, se serait très vraisemblablement déclarée.

Les doses que nous avons employées chez l'homme dépassent certainement celles qui suffiront pour écarter l'infection dans les conditions où elle s'opère habituellement, c'est-à-dire par les quelques tréponèmes qui, à la faveur d'une écorchure, pénètrent dans l'organisme. Or, même aux doses élevées que nous avons administrées à des syphilitiques, le médicament a été bien supporté. Les seuls accidents, rarement observés, ont été une élévation thermique passagère et de légers érythèmes (1).

Quelques faits d'arséno-résistance dans le traitement de la syphilis par le 190, comme d'ailleurs par les autres arsenicaux, impliquent une certaine réserve au sujet de la constance du pouvoir prophylactique et abortif de ce composé. Néanmoins, les résultats expérimentaux et nos observations cliniques suf-

(1) Voyez partie II, paragraphe 1°.

fisent, nous semble-t-il, à faire conseiller son emploi, à la fois facile et inoffensif, dans tous les cas où la contagion paraît probable.

2° Au point de vue curatif :

a) *Expérimentalement*, le 190, administré par la bouche, se montre actif dans la syphilis du lapin, qu'il guérit définitivement (absence de récidive) ;

b) *Cliniquement*, le 190, administré *per os*, exerce, dans la plupart des cas, une action cicatrisante remarquablement rapide sur les lésions superficielles de la syphilis ; il est susceptible d'enrayer l'évolution de la maladie et de rendre négative une réaction de fixation, préalablement positive, sans qu'il soit encore possible d'affirmer la guérison définitive.

Dans quelques cas, l'action thérapeutique sur les lésions est faible ; la fréquence des rechutes est, d'autre part, trop considérable, pour que le 190 seul puisse être employé *par la bouche* comme traitement *habituel* de la syphilis. Il peut, par contre, être, avec grand avantage, utilisé comme médicament d'attaque et être administré en même temps qu'un autre traitement, tel que le traitement bismuthé. Le bénéfice du traitement par absorption buccale de 190 est évidemment réel dans tous les cas où, pour des raisons diverses, les injections intraveineuses ou sous-cutanées de médicaments antisyphilitiques sont impraticables.

Les effets du 190 sur l'état général des malades (anémie, amaigrissement, etc.) ne le cèdent en rien à ceux des autres arsenicaux.

Bien entendu, le nombre des malades traités est trop restreint, la durée de l'observation clinique est encore trop courte, pour que ces conclusions puissent être considérées comme définitives. Nous poursuivons nos recherches en les complétant par l'étude de ce médicament administré par d'autres voies que la voie digestive ; nous communiquerons, en temps voulu, les résultats obtenus.

REMARQUES
SUR LE TITRAGE DES SÉRUMS THÉRAPEUTIQUES

par M. NICOLLE et E. CÉSARI.

Les sérums thérapeutiques se divisent, habituellement, en deux groupes : sérums antitoxiques et sérums antimicrobiens. Les premiers, considérés comme obtenus par l'injection de toxines pures et comme, de ce fait, uniquement actifs contre celles-ci ; les seconds, considérés comme obtenus par l'injection de microbes purs et comme, de ce fait, uniquement actifs contre ceux-ci. Or, si l'on peut considérer comme purs — « bactériennement » parlant — les poisons polliniques et les venins, il n'en va pas de même pour les filtrats diphtérique, tétanique, dysentérique..., qui contiennent plus ou moins de substance microbienne ; inversement, les corps bactériens, même tués et lavés, recèlent volontiers de la toxine. Les sérums des deux sortes ne sauraient donc être, d'ordinaire, strictement antitoxiques ou antimicrobiens. Aucun doute, mais le point essentiel ne réside pas là ; il réside dans l'indication des sérums, en matière de maladies infectieuses.

Certains germes, hautement toxigènes, se montrent réellement dépourvus de virulence, car ils ne croissent que dans les tissus préalablement nécrosés par leur poison (donc, ainsi que les saprophytes, dans la *matière morte*) ; contre les affections qu'ils déterminent (diphtérie, dysenterie..., et, préventivement, tétanos), les sérums antitoxiques apparaissent « nécessaires et suffisants ». Les autres germes se développent sans difficulté dans les tissus sains ; ils sont seuls virulents (au sens *pastorien* du mot, sens que nous nous sommes toujours efforcés de bien délimiter) ; contre les affections qu'ils provoquent (pneumococcies, méningococcies, peste...), les sérums antimicrobiens apparaissent, de leur côté, « nécessaires et suffisants ». Ceci entendu, on doit affirmer la nécessité d'aborder aujourd'hui l'étude des sérums « totaux » (antitoxiques *et* antimicrobiens).

Notre ami L. Martin considère, depuis longtemps, le pouvoir antimicrobien comme très utile aux sérums antidiphtériques, parce qu'il active la chute des fausses membranes et l'un de nous (avec Loiseau) a décelé ce pouvoir chez des échantillons qui donnaient toute satisfaction en thérapeutique humaine. Le même auteur (M. N.) préparait, jadis, à Constantinople, un sérum antidiphtérique fort actif, par injection des filtrats très toxiques (dose mortelle sous la peau du cobaye de 500-600 grammes : 1/2.000 de centimètre cube) et contenant beaucoup de substance bactérienne (on brisait, plusieurs fois, le voile des cultures et l'on n'utilisait jamais celles-ci avant deux semaines) ; le sérum, employé sur une vaste échelle, s'est constamment révélé parfait. — D'autre part, quand des germes virulents produisent une toxine suffisante, il est indiqué de profiter de ce poison, afin de compléter l'action du sérum ; nous avons obtenu ainsi des résultats encourageants, avec divers microbes (Gordon, aussi, avec les méningocoques).

Examinons, maintenant, les moyens usités pour évaluer les propriétés antitoxique et antimicrobienne.

Mesure du pouvoir antitoxique.

Elle peut se faire *in vivo* ou *in vitro*. Dans le premier cas, tantôt on mélange une quantité fixe de toxine et des quantités décroissantes de sérum ; après une demi-heure de contact (température ordinaire), on injecte le tout sous la peau des animaux réactifs (parfois on préfère la voie intraveineuse) et l'on recherche la dose minima d'antitoxine qui protège *complètement* le sujet (lequel représente ici ce que les physiciens appellent un « instrument de zéro ») — tantôt on administre le sérum la veille et la toxine le lendemain. Les deux méthodes se valent : le mélange est plus rapide et, nécessitant moins de sérum, permet de pousser le titrage plus loin ; l'injection successive élimine les actions surajoutées toujours possibles, avec le contact direct et rappelle davantage le mécanisme curatif, poison et contrepoison ne se rencontrant qu'*in vivo*.

In vitro, nous avons montré que la précipitation constituait une méthode simple et économique de mesure, dont la comparabilité absolue tient à ce que l'on élimine forcément ainsi les

variations de sensibilité individuelle des animaux (expériences effectuées avec les sérums antidiphtérique et antitétanique). Notre ami Ramon, qui applique en grand le procédé, légèrement modifié, considère sa rigueur comme dûment établie. Remarquons, toutefois, qu'il faut se servir ici de toxines aussi pures que possible (filtrats de cultures jeunes et très actives), sans quoi des précipités parasites, dus à l'action du sérum sur la substance bactérienne « dissoute », défigurent le phénomène. Pareillement, si l'on voulait reprendre les anciennes expériences de Calmette et Massol avec le sérum anticobraïque, il serait indispensable de purifier le venin ; nous sommes convaincus que la réussite se montrerait alors complète.

L'un de nous, comparant pendant plusieurs années, en Turquie, les titrages du sérum antidiphtérique au laboratoire et ses effets thérapeutiques chez l'homme, s'est assuré, contrairement à l'opinion de certains, que le sérum le plus antitoxique reste bien le meilleur (ce qui n'empêche pas, répétons-le, les propriétés antimicrobiennes de s'y ajouter utilement).

Mesure du pouvoir antimicrobien.

In vivo, toujours deux procédés, d'égale valeur : mélange et injection successive. On apprécie encore la propriété curative par la propriété préventive (d'ordinaire, chez des tierces espèces). Il n'est guère aisé d'évaluer la première directement au laboratoire ; dans la pratique, interviennent les statistiques, avec leurs avantages et inconvénients. On prendra donc une quantité fixe de germes, de virulence constante et des quantités décroissantes de sérum. Nous rejetons la voie intrapéritonéale, comme assez incertaine et trop artificielle. S'il s'agit d'organismes invisibles et incultivables (peste bovine, clavelée), le titrage des sérums correspondants devient très simple.

Quand les microbes en jeu sont inoffensifs pour les animaux (ou quand on veut économiser ceux-ci), on doit s'adresser aux méthodes *in vitro*. Que peuvent-elles nous indiquer? L'agglutination et la précipitation donnent des idées sur la proportion d'anticorps que contient le sérum. La fixation (technique de Bordet et Gengou), également ; elle renseigne, aussi, sur les rapports de l'anticorps et du complément. La « bacté-

ricidie » *in vitro* montre la destruction extra-cellulaire des germes (qui joue un rôle variable *in vivo*). La phagocytose *in vitro* témoigne de la mesure dans laquelle l'anticorps provoque l'englobement des parasites (fréquemment suivi de leur digestion rapide chez l'animal). Tout cela semble séduisant, théoriquement; pratiquement, on reconnaît bientôt que nos méthodes demeurent fort imparfaites. Nous allons le prouver, en examinant celles-ci l'une après l'autre.

Agglutination. — Lorsque des microbes — suspendus au sein d'un liquide qu'isotonisent des sels — ont fixé la quantité voulue d'anticorps, ils confluent, sous forme d'amas de volume croissant et se déposent lentement. Le phénomène se trouve grandement accéléré, quand on agite : quelques minutes suffisent alors (comme nous l'avons établi). Pour une masse invariable de germes, il faut d'autant moins de sérum que ce sérum possède plus d'activité et que les germes sont plus agglutinables. On ne peut donc comparer la teneur de divers sérums en anticorps que si l'on utilise des échantillons microbiens de sensibilité constante. Il convient de choisir celle-ci aussi élevée que possible, tenant compte, bien entendu, de la réaction des organismes donnés vis-à-vis du sérum normal de l'espèce qui fournit l'anticorps.

On doit admettre, toutes choses égales d'ailleurs, que le taux de l'agglutination affecte des relations certaines avec la proportion d'anticorps que recèle le sérum ; de même, pour la précipitation (extraits bactériens). Mais, tandis que, chez les antitoxines, la concordance apparaît complète entre la précipitation et la neutralisation *in vivo*, ici semblable relation fait défaut. Un sérum qui n'agglutine pas peut être excellent et un sérum qui agglutine très médiocre.

Fixation. — Voici ce que nous avons constaté. Chez les microbes fort agglomérables, l'échelle d'agglutination déborde toujours l'échelle de fixation. Parmi les microbes moins agglomérables, le contraire se voit quelquefois (ainsi : les méningocoques — et le gonocoque, inagglutinable sans l'intervention de la technique de Porges); le procédé Bordet-Gengou mesure alors bien mieux la quantité d'anticorps que l'agglutination et,

fait important, le titrage *in vitro* concorde alors avec les effets curatifs observés en médecine humaine — ailleurs (pneumocoque) les deux catégories de valeurs restent basses et les deux échelles peu étendues (donc inutilisables).

« Bactéricidie » *in vitro*. — Trop délicate en sa technique et du reste souvent inapplicable (M. Nicolle, Jouan et Debains). De plus, comme on ne sait guère à quoi elle correspond *in vivo*, mieux vaut y renoncer.

Phagocytose *in vitro*. — On manque, actuellement, d'une méthode simple, rapide et bien comparable, pour évaluer le pouvoir que possèdent certains sérums de provoquer (*in vitro*) l'englobement des microbes homologues. Nous étudions, depuis des mois, cette question importante, mais terriblement ardue.

Ainsi donc, la mesure du pouvoir antimicrobien *in vitro* demeure souvent impossible. Il faut l'avouer « carrément » et s'efforcer de combler de fâcheuses lacunes.

Dans ce qui précède, nous avons, pour plus de clarté, fait abstraction des *races antigènes* (pneumocoque, méningocoque). Il va sans dire que si tout sérum, engendré par l'une d'elles, doit être titré avec les spécimens correspondants, on aura cependant intérêt à savoir son degré d'efficacité sur les représentants des autres types. Quand il s'agit des sérums, dits polyvalents, cette épreuve multiple s'impose naturellement. Mentionnons, ici, l'avantage d'obtenir chaque sorte de sérum polyvalent en n'injectant qu'un seul germe, de « domaine antigène » très étendu. De cette manière, Truche a préparé, jadis, du sérum actif contre les diverses races de pneumocoque, rien qu'avec son échantillon n° II.

Telles sont les quelques réflexions que nous désirions présenter, touchant le titrage des sérums thérapeutiques. Nous renvoyons, pour les détails techniques, aux travaux des auteurs et aux nôtres.

RECHERCHES SUR L'ATTRACTION DES MOUCHES COMMUNES PAR LES SUBSTANCES DE FERMENTATION ET DE PUTRÉFACTION

par E. ROUBAUD et R. VEILLON.

L'étude des propriétés d'attraction qu'exercent à l'égard des mouches les principes chimiques divers et en particulier les substances dérivées des fermentations organiques ou des putréfactions, présente un intérêt pratique de premier ordre sur lequel nous ne croyons pas nécessaire de nous étendre. Il faut distinguer, à ce point de vue, deux catégories de « réponses chimiotropiques » des mouches, dont la connaissance précise offrirait une très grande importance : c'est tout d'abord l'*attraction alimentaire*, qui est réalisée par les substances dont les mouches adultes se nourrissent et s'exerce différemment suivant les sexes et l'état physiologique des mouches; c'est ensuite l'*attraction de ponte* qui s'exerce plus électivement sur les femelles aptes à déposer leurs œufs et suscite leur choix d'un milieu propice à l'exercice de leur fonction reproductrice.

Des travaux divers ont, dans ces dernières années, tenté d'apporter quelques précisions sur ces différentes questions. Tout d'abord, les recherches de Graham-Smith (1) font, par exemple, ressortir l'influence qu'exercent les appâts de nature variée (excréments, viande, fruits) sur l'espèce, le nombre et le sexe des mouches communes capturées à différentes périodes de l'année. Celles de Richardson (2), relatives à la mouche domestique, montrent que l'AzH^3 constitue un élément actif dans l'attraction des femelles pour la ponte. Les acides valé-

(1) Observations on the habits and parasites of Common flies. *Parasitology*, 7 juin 1915.

(2) A chemotropic response of the house fly (Musca domestica). *Science*, **43**, 28 avril 1916. The response of the House fly to certain Foods and their Fermentation products. *Journ. Econ. Entom.* Concord., **10**, n° 1, février 1917.

rianique et butyrique, agissant en présence de carbonate d'ammoniaque, sont également actifs dans le même sens. Pour ce qui concerne l'attraction alimentaire, certaines substances comme les sucres, l'amidon, la dextrine, le gluten ne jouent qu'un rôle à peu près nul, tandis que certains alcools, comme l'alcool amylique, surtout en solution à 4 p. 100, exercent un chimiotropisme plus marqué.

Speyer (1) obtient des résultats assez semblables en étudiant les produits de décomposition de certains fruits (bananes). Il précise que les alcools, aldéhydes et acides contenant le groupement CH^3 sont actifs lorsque leur poids moléculaire est inférieur à 30. Imms et Husain (2) reconnaissent à l'alcool éthylique additionné de traces d'acides butyrique, valérianique ou acétique quelques propriétés d'attraction, tandis qu'à l'état pur cet alcool est sans action sur les Diptères.

P. R. Awati et C. S. Swaminath (3), aux Indes, montrent en partant de substances alimentaires diverses (riz, farine, œufs, viande, poisson, etc.), que la libération de certains gaz ou produits de fermentation est indispensable à l'attraction des mouches. Parmi ces substances, l'ammoniaque, l'hydrogène sulfuré, certains composés organiques du phosphore paraissent jouer le rôle principal. L'alcalinité ou l'acidité du milieu sont sans action. Les expériences ont porté sur les mouches de maisons de l'Inde (*M. divaricata*, *M. promisca*) et certaines espèces de plein air (*Calliphora*, *Lucilia*); mais le sexe, et souvent les espèces, ne sont pas précisés.

Les recherches les plus suggestives sont celles de Crumb et Lyon (4) qui ont étudié le déterminisme chimique de la ponte chez la mouche domestique. Ces auteurs précisent dans leurs publications diverses que le gaz carbonique est un stimulant actif du dépôt des œufs, l'ammoniaque, contrairement aux conclusions de Richardson, ne jouant qu'un rôle secondaire dans le

(1) *Ann. Appl. Biol.* Cambridge, 1er septembre 1920.

(2) Field experiments in the chemotropic responses of flies. *Ann. Appl. Entom.* Cambridge, 6, n° 4, avril 1920.

(3) Bionomics of house flies; III. A preliminary note on attraction of house flies to certain fermenting and putrefying substances. *Ind. Journ. Med. Res.*, 7, n° 3, janvier 1920.

(4) *Journ. Econ. Entom.* Concordia, n° 6, décembre 1917 et *Journ. Econ. Ent.*, Geneva, New-York, n° 6, décembre 1921, et *The Review of Appl. Entom.*, avril 1922.

phénomène. L'acide acétique a également un rôle actif. La mouche serait attirée pour pondre en raison même des proportions de CO^2 et d'acide acétique libérés par les processus de fermentation, dans les substances recherchées pour le dépôt des œufs. Il faut rapprocher ces observations de celles de Willem Rudolfs (1) sur les moustiques du G. *Aëdes*, d'après lesquelles le gaz carbonique est donné comme un corps stimulant l'activité et les aptitudes à la piqure.

Nous citerons enfin les études récentes d'Atkins (2), en Egypte, qui voit dans l'alcool amylique, l'acétate d'amyle, et plus encore dans l'acétate de butyle, des corps réellement attirants pour les mouches.

Ces différents travaux, pour ne citer que les principaux, ne permettent guère que par la divergence fréquente de leurs résultats d'apprécier toute la complexité du sujet. Chercher à voir dans certains principes chimiques simples et bien définis la raison maîtresse de l'attirance exercée sur les mouches par leurs aliments ou leur milieu de développement, nous semble constituer, dans la plupart des cas, une interprétation beaucoup trop simpliste des phénomènes. Il nous paraît hors de doute que la solution des problèmes envisagés doit être considérée comme très ardue. C'est du moins laconclusion que nous pouvons tirer des premières séries d'expériences que nous avons réalisées dans cet ordre d'idées, et dont nous donnons ci-après les résultats.

Ces expériences auront comme mérite de permettre d'apprécier la complexité des questions en cause. Elles mettent surtout en évidence la sensibilité extrême des mouches à certaines influences chimiotropiques qui comportent toujours l'intervention de facteurs chimiques très divers; elles manifestent aussi la variabilité de la réponse suivant le sexe et suivant la nature spécifique de la mouche envisagée. Nous ne pouvons au surplus considérer nos essais actuels que comme une première base pour des études plus définies que nous nous proposons de poursuivre ultérieurement.

Nos expériences ont été réalisées en plein air dans les jar-

(1) Chemotropism op mosquitoes. *New Jersey Agric. Exp. St.*, n° 367, mars 1922.

(2) *Ann. Appl. Entom.*, Cambridge, 8, novembre 1921.

dins de l'Institut Pasteur à Paris. Après différents essais portant sur la forme, les dimensions des récipients, le mode de capture des mouches, le dispositif suivant a été adopté :

Les substances attirantes à étudier étaient placées dans des récipients de verre cylindriques, de 0 m. 20 environ de hauteur, pour 9 centimètres de diamètre. Ces récipients étaient recouverts d'un entonnoir de verre dont le tube central avait été sectionné à un demi-centimètre du fond de l'entonnoir. Le dispositif formait piège : les mouches, attirées par la substance chimiotropique, s'introduisaient par l'entonnoir dans le récipient où on les capturait et dénombrait à la fin de la journée. Nous avons également fait usage, mais sans en retirer d'avantages particuliers, d'entonnoirs en toile métallique, au lieu d'entonnoirs de verre.

Les récipients-pièges étaient placés, comme nous l'avons dit, en plein air, à un mètre environ les uns des autres, sur deux supports parallèles orientés est-ouest, à l'intérieur d'une vaste cage en treillis métallique à mailles larges, destinée à protéger les pièges.

Les mouches allaient et venaient librement de l'extérieur à l'intérieur de l'appareillage, à travers les larges mailles du treillis métallique.

Toutes les expériences ont été réalisées dans les mois d'été, par journées chaudes et au soleil. La durée de chacun des essais a été uniformément limitée à une matinée et un après-midi (environ huit heures).

Attraction par les produits simples de fermentation.

Dans une première série d'essais nous avons d'abord expérimenté l'action de substances ou produits de fermentations simples, bien définis chimiquement : sucres, alcools, ammoniaque et dérivés ammoniacaux, indol, scatol, etc.

Les résultats de ces essais sont donnés dans le tableau ci-après.

On voit par ces expériences que les sucres et produits sucrés non fermentés, les alcools, l'ammoniaque, n'ont en général exercé sur les mouches diverses qu'une action chimiotropique sensiblement nulle.

NATURE DES SUBSTANCES		DATE de L'EXPÉRIENCE	MOUCHES CAPTURÉES
Sucres . . .	Sirop de saccharose	3 août.	0
	Sirop de glucose	3 —	0
	Sirop de lactose	3 —	0
	Sirop de maltose	3 —	0
	Miel	3 —	*Fannia canicularis* ♂ (1 ex.).
	Cassonnade	3 —	0
Alcools . . .	Fermentation alcoolique du glucose	3 —	0
	Alcool éthyl. 10 %	3 —	0
	Amylique 10 %	3 —	*Dryomyza flaveola* (1 ♀). .
	Méthylique 10 %	3 —	0
	— 5 %	3 —	0
	— 1 %	3 —	0
Acides . . .	Acétique (ferm. acét.)	3 —	*Drosophila ampelophila.*
	Lactique (ferm. lact.)	3 —	»
	Butyrique (ferm. but.)	3 —	*Calliphora erythrocephala* (1 ♀).
	Valérianique	3 —	*Lucilia sericata* (1 ♀). *Hylemyia strigosa* (2 ♂).
Ammoniaque et dérivés .	Az H^3 (sol. comm. à 1/10)	3 —	0 [1]
	Sulfhydrate d'amm.	3 —	*Stomoxys calcitrans* (1 ♀). *Lucilia cœsar* (1 ♂). *Lauxania chorea* (1 ♀).
	Sulfhydrate d'amm.	30 sept.	*Stomoxys calcitrans* (1 ♂).
	Valérianate d'amm.	30 —	Anthomyaires indét. (3 ♀).
	Valérianate d'amm.	3 août.	*Stomoxys calcitrans* (1 ♀). *Lucilia sericata* (1 ♂) [2]. *Fannia canicularis* (1 ♀).
Amines . . .	Mono-méthylamine	9 —	0 [3]
	Di-méthylamine	3 —	*Phormia groënlandica* (1 ♀).
	Tri-méthylamine	3 —	*Muscina stabulans* (2 ♂, 1 ♀). *Phormia regina* (1 ♀).
Dérivés indoxyliques des fermentations albuminoïdes. .	Indol	4 —	*Stomoxys calcitrans* (1 ♀).
	Scatol	4 —	*Borborus sp.* (1) [4].

(1) Un seul diptère du g. *Psychodes* (Dipt. nemat.) a été capturé.
(2) Exemplaire nouvellement éclos comme l'indiquait l'ampoule frontale caractéristique.
(3) Un diptère nematocère (Sciaride).
(4) En plus, divers Sciarides.

Parmi les différentes substances définies pouvant émaner de fermentations et des putréfactions organiques, celles qui se sont montrées les plus actives, en dehors de l'acide acétique pour la mouche du vinaigre, ont été le sulfhydrate d'ammoniaque, le valérianate d'ammoniaque, l'acide valérianique, la triméthylamine. Cette action chimiotropique n'apparaît le plus souvent pas spécifique, à l'égard de certaines mouches déterminées.

Nous relèverons cependant un résultat inattendu et digne d'intérêt : c'est la capture du Stomoxe (*St. calcitrans*), la mouche piqueuse des écuries, dans les lots à *Sulfhydrate d'ammoniaque* (deux expériences différentes de dates éloignées), à *Valérianate d'ammoniaque* et *Indol*. Il n'est pas douteux, par conséquent, que cette mouche piqueuse ne réponde chimiotropiquement de façon spéciale à l'attirance de ces produits, qui comptent parmi les résidus ordinaires des putréfactions avancées.

La première hypothèse qui vient à l'esprit, à ce sujet, c'est que ce sont là les éléments normaux de l'attraction des femelles pour la ponte, dans les fumiers d'animaux. Mais en examinant à ce point de vue les Stomoxes capturés dans nos lots d'expériences, nous avons reconnu qu'il s'agissait uniquement de femelles immatures, dont les ovules, à peine en voie de développement dans les gaines ovariques, ne justifiaient pas une attirance pour la satisfaction du besoin de ponte. Il faut dès lors admettre un tropisme d'ordre alimentaire, et ceci nous amène à la conclusion intéressante que les différentes substances envisagées font partie des éléments normaux des sécrétions cutanées (sueur) qui attirent ces mouches piqueuses vers le corps des animaux. Toutefois, le très faible nombre des mouches qui ont réagi à l'attraction, dans nos expériences, montre bien que les composés dont il s'agit n'interviennent que d'une façon très secondaire dans le déterminisme de l'attirance normale de nutrition sur les hôtes vivants. On peut d'ailleurs reconnaître, avec des Stomoxes maintenus en captivité, que, seuls ou en mélange, ni l'Indol, ni le Valérianate, ni le Sulfhydrate d'ammoniaque n'attirent sensiblement ces Insectes. Exceptionnellement cependant certains Stomoxes réagissent à l'égard de l'Indol en manifestant des tendances à la piqûre.

Attraction produite par les éléments complexes des décompositions organiques.

Si au lieu d'expérimenter avec des substances chimiquement définies, à l'état pur et isolément, on opère avec des matières organiques soumises à des macérations ou à des putréfactions qui mettent en liberté le complexe naturel des éléments de dissociation, on voit alors se manifester réellement les propriétés d'attraction, au moins à l'égard de mouches vivant normalement aux dépens des décompositions animales. Ici la réponse est franche, immédiate, et les captures, par le même procédé expérimental que précédemment, deviennent infiniment plus considérables. Nous donnons ci-après, en tableaux, les principaux résultats que nous avons obtenus.

I. Extrait de levure aromatique. Expérience du 20 juillet. — L'attraction s'est montrée faible : 14 muscides seulement capturés. On note :

Muscina stabulans	11 (9 ♀ et 2 ♂).
Calliphora erythrocephala	1 ♂.
Fannia incisurata	2 ♂.

II. Macération de viande. Durée de la macération : deux jours (1). Expérience du 2 juillet. — Attraction active : plusieurs centaines de mouches capturées. Sur 225 examinées on note :

Muscina stabulans	72 (♂ et ♀ en mêmes proportions).
Calliphora erythrocephala	39 (♂ et ♀ en mêmes proportions).
Lucilia cœsar	5 ♀.
Lucilia sericata	6 ♀.
Phormia regina	3 ♀.
Phormia groenlandica	12 (♂ et ♀).
Ophyra leucostoma	3 ♂.
Hydrotaea dentipes	3 ♂.
Mydaea platyptera	4 ♂.
Fannia scalaris	5 ♂.
Fannia incisurata	5 ♂.
Anthomyia radicum	3 ♂.
Femelles d'anthomyiaires (*Anthomia*, *Fannia*) d'espèces diverses non identifiées	60.
Musca domestica	1 ♂.
Sarcophaga nurus	4 (2 ♂ et 2 ♀).

(1) Toutes les macérations de viande étaient obtenues avec des muscles de veau, dégraissés et hachés, à raison de 500 grammes pour 1 litre d'eau.

III. Macération de viande. Durée de la macération : trois jours. Expérience du 9 juillet. — Attraction active : plusieurs centaines de mouches capturées. Sur 165 mouches examinées on note :

Muscina stabulans	101 (13 ♂).
Calliphora erythrocephala	17 (11 ♂ et 6 ♀).
Sarcophaga nurus	2 (♂).
Lucilia cæsar	4 (1 ♂ et 3 ♀).
Phormia regina	4 ♀.
Phormia groenlandica	7 (1 ♂).
Hydrotæa dentipes	1 ♂.
Fannia scalaris	2 ♂.
— *incisurata*	3 ♂.
— *canicularis*	1 ♂.
Femelles d'anthomyaires diverses (*Hydrotæa*, *Fannia*, *Mydæa*, etc.)	33 ♀.

IV. Macération de viande. Durée de la macération : quatre jours. Expérience du 15 juillet. — Attraction active. Plusieurs centaines de mouches capturées. Sur 228 mouches examinées on note :

Muscina stabulans	36 (4 ♂ et 32 ♀).
Calliphora erythrocephala	20 (8 ♂ et 12 ♀).
Sarcophaga nurus	1 ♂.
— *melanura*	2 ♂.
— *sp.?*	2 (♂ ♀).
Musca domestica	5 (1 ♂ et 4 ♀).
Lucilia cæsar	14 (6 ♂ et 8 ♀).
— *sericata*	7 ♀,
Phormia regina	5 (3 ♂ et 2 ♀).
— *groenlandica*	14 (6 ♂ et 8 ♀).
Ophyra teucostoma	9 (3 ♂ et 6 ♀).
Hydrotæa dentipes	6 (1 ♂ et 5 ♀).
Mydæa platyptera	2 ♀.
Fannia canicularis	3 ♂.
— *incisurata*	4 ♂.
Femelles d'anthomyiaires : (*F. canicularis*, *incisurata* et indét.)	88

V. Viande en début de putréfaction. (Muscles non hachés maintenus sous une couche d'eau pendant vingt-quatre heures). Expérience du 20 juillet. — Attraction moyenne. Environ 400 mouches capturées. Sur 274 mouches examinées on note :

Muscina stabulans	52 (♂ et ♀ en mêmes proportions).
Calliphora erythrocephala	16 (2 ♂ et 14 ♀).
Musca domestica	1 ♂.
Lucilia sericata	30 ♀.
— *cæsar*	3 ♀.
Phormia regina	9 (8 ♀ et 1 ♂).
— *groenlandica*	14 (13 ♀ et 1 ♂).

Sarcophaga nurus	1 ♂.
— *sp.* ?	2 ♂.
Femelles d'anthomyiaires diverses (*Fannia*, *Homalomyia*, *Mydaea platyptera*, etc).	145 (♂ = 0).

VI. Poisson de mer (Déchets dans l'eau. Début de putréfaction). Expérience du 8 août. — Attraction faible : 34 mouches capturées. Ce sont :

Muscina stabulans	18 (9 ♂ et 9 ♀).
Calliphora erythrocephala	6 ♀.
Sarcophaga nurus	2 ♂.
Anthomyiaires indét.	8 ♀.

VII. Macération de pommes de terre cuites (1). Expérience du 8 août. — Attraction active. Plusieurs centaines de mouches capturées. Sur 144 examinées on note :

Muscina stabulans	20 (♂ et ♀ en mêmes proportions).
Calliphora erythrocephala	55 (15 ♂ et 40 ♀).
Sarcophaga nurus	13 (♂ et ♀).
— *sp.* ?	4 ♀.
Lucilia sericata	16 (4 ♂ et 12 ♀).
— *cæsar*	3 ♂.
Phormia groenlandica	6 (3 ♂ et 3 ♀).
Musca domestica	1 ♂.
Stomoxys calcitrans	2 ♀.
Anthomyiaires diverses (*Fannia*, *Anthomyia*, *Mydaea platyptera*)	24 (13 ♂ et 11 ♀).

VIII. Macération de poires (2). Expérience du 8 août. — Attraction très active. Milliers de mouches capturées. Sur 172 examinées on note :

Calliphora erythrocephala	106 (♂ et ♀ en mêmes proportions).
Muscina stabulans	25 (♂ et ♀ en mêmes proportions).
Musca domestica	3 (2 ♂ et 1 ♀).
Sarcophaga nurus	8 (4 ♂ et 4 ♀).
Lucilia sericata	4 ♀.
Mydaea platyptera	17 (♂ et ♀).
Fannia scalaris	1 ♂.
— *canicularis*	4 ♂.
Anthomyia radicum	1 ♂.
Anthomiaires ♀ indét.	3 ♀.

Dans ces différentes expériences, l'attraction doit être considérée, pour le plus grand nombre des mouches sinon pour

(1) Pommes de terre cuites à l'eau, écrasées, en macération sous l'eau pendant plusieurs jours.

(2) Poires blettes écrasées dans l'eau et macérées pendant trois jours.

toutes, comme de nature alimentaire. La très grande majorité des femelles examinées n'étaient pas en état de ponte ; elles venaient simplement pour se nourrir. C'est la macération de poires qui s'est montrée la plus attirante.

Bien que les mêmes espèces se retrouvent presque dans tous les lots, les variations d'abondance relative de chacune d'elles, soit par rapport au nombre total des mouches capturées, soit dans la proportion des différents sexes d'une même espèce, accusent la très grande sensibilité de la réponse aux émanations gazeuzes en rapport avec les transformations chimiques des substances envisagées.

Si l'on considère, en effet, les expériences II, III, IV, portant sur la même substance d'attraction (macération de viande) mais à des temps divers de la transformation chimique, on notera, parmi les principales, les variations suivantes pour les deux espèces les plus répandues :

Muscina stabulans.

	PROPORTION relative	PROPORTION des ♂ aux ♀
Macération fraîche (exp. II)	32 p. 100	41,9 p. 100
— de 3 jours (exp. III)	61,2 p. 100	12 p. 100
— de 4 jours (exp. IV)	15,5 p. 100	11 p. 100

Pour cette espèce, le maximum global de l'attraction s'est manifesté avec la macération de trois jours ; pour les mâles, la macération fraîche a été plus attirante que les macérations plus anciennes.

Calliphora erythrocephala.

	PROPORTION relative	PROPORTION des ♂ aux ♀
Macération fraîche (exp. II)	17,3 p. 100	45 p. 100
— de 3 jours (exp. III)	10 p. 100	64,7 p. 100
— de 4 jours (exp. IV)	8,7 p. 100	40 p. 100

Pour cette espèce, le maximum global de l'attraction a été obtenu avec la macération fraîche ; mais les mâles ont été plus attirés par la macération de trois jours que par les deux autres.

Pour les femelles d'Anthomyiaires, prises dans leur ensemble, les proportions relatives ont été de :

26,8 p. 100 pour la macération fraîche (exp. II).
20 p. 100 — — de 3 jours (exp. III).
35,1 p. 100 — — de 4 jours (exp. IV).

Il est particulièrement curieux de constater que la mouche à viande (*C. erythrocephala*), type des espèces sarcophages, a été beaucoup plus attirée par les macérations végétales (poires et pommes de terre) que par les macérations de viande : plus de 61 p. 100 des mouches attirées par la macération de poires appartenaient à cette espèce (1). Inversement, les femelles d'Anthomyiaires (*Fannia*, *Homalomyia*, *Mydæa*, etc.) ont répondu de façon incomparablement plus intense à l'attraction des macérations animales qu'à celle des macérations végétales. Il s'agit sans doute, dans tous ces cas, d'attraction alimentaire.

Parmi les mouches vertes ou Lucilies, l'espèce *L. sericata* qui se développe si fréquemment sur les cadavres, ou en myiases dans les ulcères, n'a répondu que très faiblement en général à l'attraction des macérations de viande, par rapport à l'espèce voisine *L. cœsar*. Nous voyons au contraire *L. sericata* dominer franchement l'autre espèce dans les macérations végétales. Elle prédomine cependant fort nettement dans l'expérience V, où la viande était en début de putréfaction. Il s'agit alors exclusivement de mouches femelles. Cette préférence pour la viande en décomposition commençante expliquerait la fréquence de cette espèce ou de ses variétés dans les cas de myiases humaines ou animales.

Dans tous ces essais pratiqués, il est vrai, en plein air, la mouche domestique n'a manifesté ses réactions tropiques que d'une façon tout à fait secondaire, bien que la présence de cette mouche ait été constatée dans la plupart des lots de fermentations complexes. Quant au Stomoxe, dont nous avons indiqué plus haut la constance des réactions à l'égard de certains produits dérivés des putréfactions et des dédoublements albuminoïdes, nous ne le voyons apparaître, dans les fermentations complexes, qu'à l'expérience VII (macération de pommes de terre). Il s'agit de femelles qui peut-être ont été attirées pour la ponte.

(1) Nous mentionnerons à ce sujet que Hase signale une attraction de même ordre pour *Calliphora vomitoria* (*Zeitsch. f. angew. Entom.*, **2**, 1919). Plus de 2.000 mouches de cette espèce (?) [sans doute : *C. erythrocephala*] ont été recueillies dans un local renfermant des pommes de terre pourries.

Toutes ces données confirment la complexité des réactions chimiotropiques des mouches et l'importance d'une étude approfondie de ces questions qui doivent être envisagées comme particulièrement délicates. Non seulement d'une espèce à l'autre les réactions diffèrent complètement, mais encore elles diffèrent d'un sexe à l'autre, pour ne considérer que les réactions d'ordre alimentaire. Ces dernières doivent d'ailleurs être conçues comme tout à fait distinctes de celles qui s'exercent sur les femelles au moment de la ponte, et il est nécessaire de bien les en différencier. Ce sont là deux catégories de phénomènes qui n'ont souvent rien de commun l'un avec l'autre.

La preuve la plus manifeste en est fournie par le cas de la mouche domestique. L'attraction de ponte, pour cette espèce, est réalisée au maximum par le crottin de cheval en fermentation, substance très pauvre en principes alimentaires pour les femelles, comme l'indique l'un de nous dans une étude spéciale (1), et que celles-ci ne recherchent nullement pour leur nourriture courante. Quant au déterminisme chimiotropique de la ponte, chez cette mouche, il ne nous paraît pas non plus aussi simple que ne paraissent l'envisager Crumb et Lyon dans les recherches que nous avons mentionnées plus haut.

En dehors des dégagements de gaz carbonique et d'acide acétique, sur lesquels insistent ces auteurs, les milieux de ponte recherchés par cette mouche sont également caractérisés par une élévation de température et un gros dégagement de vapeur d'eau. Ces deux facteurs, qui sont susceptibles de faciliter le labeur physiologique de la ponte, ne sont certainement pas sans intervenir puissamment dans le choix des lieux favorables au dépôt des œufs. Celui-ci survient toujours en effet dans certaines parties très spéciales des amas de fumier, d'étendue très limitée, où les femelles aptes à pondre se groupent souvent en amas denses; et l'on peut voir fréquemment, sur les tas de fumier de cheval en fermentation commençante, les mouches en cours de ponte complètement, recouvertes d'un dépôt de vapeur d'eau, provenant d'une vaporisation plus particulièrement intense à l'endroit choisi. On peut se demander si l'action

(1) E. Roubaud, Recherches sur la fécondité et la longévité de la mouche domestique (V. ci-après).

émolliente de ce bain de vapeurs chaudes sur les parties chitineuses de l'abdomen ne joue pas un rôle favorisant dans le mécanisme de l'expulsion des œufs. Ce fait pourrait justifier à lui seul le choix pour la ponte des milieux de fermentation, le dégagement des acides volatiles n'intervenant dans le tropisme que comme un phénomène surajouté, auxiliaire du précédent.

Si l'on étudie d'autre part, *in vitro*, l'action du gaz carbonique sur les mouches domestiques, on reconnaît que ce gaz, agissant en quantité insuffisante pour provoquer la léthargie asphyxique, détermine par voie réflexe l'apparition des mouvements caractéristiques de la ponte. Sous l'action simple du gaz carbonique, on voit se produire la dévagination de l'oviscapte, aussi bien chez les femelles gravides que chez les femelles inaptes à la ponte mais dont l'abdomen est distendu par les sucs alimentaires. Il s'agit là d'une réaction de nature nerveuse, éminemment propre à faire comprendre pourquoi la ponte de l'espèce se manifeste essentiellement sur des milieux riches en dégagement carbonique, puisque ce dernier provoque ou facilite les mouvements d'expulsion des œufs. Cependant, le gaz carbonique seul, pas plus que la vapeur d'eau tiède, ne suscite l'attraction des mouches, gravides ou non. Ce n'est donc pas lui qui intervient fondamentalement dans l'attirance exercée par les milieux de ponte, dans la nature.

De même que pour l'attraction alimentaire des autres espèces, il paraît difficile de raisonner ici sur des actions physiques ou chimiques isolées. Les mouches sont attirées en vertu d'un mélange complexe d'émanations gazeuses qui définissent, à une époque déterminée, la marche de la décomposition du milieu complexe envisagé ; c'est l'ensemble de ces émanations dont la proportion dans le mélange total varie suivant les progrès de la décomposition, qui intervient dans l'attraction sans qu'on puisse attribuer à l'un ou l'autre des constituants une influence tropique prépondérante par lui seul.

RECHERCHES SUR LA FÉCONDITÉ ET LA LONGÉVITÉ DE LA MOUCHE DOMESTIQUE

par E. ROUBAUD.

Bien que la mouche domestique soit la plus répandue de toutes les mouches, celle aussi qui vit en communauté d'habitudes les plus étroites avec l'homme, on est encore assez mal fixé sur les manifestations les plus essentielles de sa biologie courante, en particulier sur la durée moyenne de sa vie active et sur ses capacités reproductives. Les difficultés qui s'attachent à l'étude expérimentale suivie de cet insecte n'ont pas permis jusqu'ici d'apprécier, comme on l'a fait par exemple pour certaines formes tropicales telles que les Glossines, la longévité relative des femelles en état de ponte, et, par la quantité d'œufs qu'elles sont susceptibles de produire, l'étendue de leur descendance.

Pendant l'hiver, à température inférieure à 15°, on sait qu'il est possible de conserver les mouches pendant un temps assez long : de cinquante-deux à quatre-vingt-onze jours d'après les chiffres fournis par Howard et Hutchison (1), tandis que certains auteurs (Jepson, Griffith) parlent de onze à seize semaines. Mais cette longévité relativement considérable ne s'observe que pour des mouches en période d'hibernation, peu actives et ne se reproduisant pas. Elle paraît d'ailleurs insuffisante pour leur permettre de passer intégralement l'hiver dans de telles conditions d'inertie, et c'est sous la forme immature, larvaire ou nymphale, que l'hibernation proprement dite semble pouvoir s'effectuer. D'après mes observations personnelles, faites sur les fumiers de l'Institut Pasteur, et qui confirment celles de H. Lyon (2), de Dove (3), de Kisliuck (4),

(1) The House fly *U. S. Dep. Agric., Farmers' Bull.*, 851, août 1917.
(2) *Psyche*. Boston, **22**, n° 4, août 1915.
(3) *Journ. Econ. Entom.*, Concordia, **9**, n° 6, décembre 1916.
(4) *Ohio Journ. Sc.*, **17**, n° 8, juin 1917.

de Mc. Donnell et Eastwood (1), de Graham-Smith (2) de Howard et Hutchison (3), etc., celle-ci est possible mais exceptionnelle; normalement la mouche domestique n'hiverne pas et poursuit pendant l'hiver son activité génératrice dans les pièces ou écuries chauffées, suivant les mêmes conditions qu'en été, c'est-à-dire d'une manière ininterrompue.

Lorsqu'elle est ainsi placée dans des conditions de vie active, soit au cours des mois chauds, soit pendant l'hiver dans des locaux chauffés, la durée de l'existence de la mouche s'abrège beaucoup et il devient souvent difficile d'observer en captivité une longévité appréciable. Aussi Hewitt (4) a-t-il pu écrire, à ce sujet, que « la difficulté de déterminer expérimentalement la durée de la vie normale de la mouche domestique ne peut être appréciée que par ceux qui l'ont tentée ». Cet auteur n'a pas réussi à observer pour cette mouche une survie supérieure à sept semaines, et il estime à deux mois environ la durée de vie normale d'une mouche active en été.

Comme l'appréciation de la longévité, celle de la fécondité qui en dérive est difficile à établir par les procédés expérimentaux d'élevage, la mouche étant très sensible aux conditions de la captivité. On note couramment, dans les lots de ponte d'une seule mouche, de 100 à 150 œufs; mais combien de pontes successives de cette importance une mouche peut-elle produire au cours de sa vie, c'est un problème qui ne semble pas avoir été nettement éclairci. Howard estime qu'une femelle peut déposer au moins deux et peut-être quatre pontes successives de 120 œufs. Hewitt, en se basant sur des observations anatomiques, d'après la numération directe des ovules dans les ovaires, admet que chaque mouche femelle doit produire de cinq à six pontes successives, d'une centaine d'œufs chacune.

D'autre part, d'après les observations de cet auteur, les mouches pourraient commencer à pondre quatorze jours après l'éclosion de la pupe. Comme la durée de développement, depuis le dépôt de l'œuf jusqu'à l'éclosion de l'adulte, peut être estimée à une dizaine de jours dans de bonnes conditions de

(1) *Journ. Royal Army Medic. Corps.*, **29**, n° 1, juillet 1917.
(2) *Parasitology*, **8**, n° 4, juin 1916.
(3) *Loc. cit.*
(4) *The House Fly*, Cambridge, 1914.

température, il faudrait alors compter de vingt-trois à vingt-quatre jours pour la durée du cycle total, depuis le dépôt d'un œuf jusqu'à la première ponte de la mouche qui en est issue.

Pour Howard et Hutchison, le développement en été pourrait être notablement plus rapide. La durée du développement total en plein été, de l'œuf à l'éclosion de la mouche adulte, demanderait de huit à dix jours et la ponte pourrait commencer à se produire de trois à quatre jours après l'éclosion, ce qui représente un total de onze à quatorze jours pour l'apparition d'une nouvelle génération.

D'après Howard, on pourrait estimer à 5.598.720.000.000 d'individus le nombre théorique de descendants issus à la fin de septembre, par le jeu des générations successives, d'une seule femelle qui aurait pondu 120 œufs le 15 avril.

Dans des recherches récentes effectuées dans l'Inde, P. Awati (1) a cherché à apprécier la fécondité relative et la longévité en captivité de mouches domestiques voisines de la nôtre : *M. divaricata* (= *nebulo*) et *M. promisca* (= *angustifrons*). Il a noté que la première ponte, pour ces espèces, peut apparaître de neuf à dix-huit jours après l'éclosion de la pupe, la première espèce produisant de 50 à 100 œufs, la seconde moins de 50 à chaque ponte. Il peut y avoir de sept à neuf pontes successives, à des intervalles variant de deux à dix jours. La longévité maxima observée a été pour *M. divaricata* de cinquante jours, pour la seconde espèce de cinquante-six jours. Lorsque les mouches sont isolées dans les cages elles pondent moins et vivent moins longtemps que rassemblées à plusieurs. Le maximum de survie observé dans ces conditions n'a été respectivement que de quarante-deux et trente-quatre jours. La durée totale du cycle évolutif (de l'œuf à l'œuf) est de vingt à trente jours pour *M. divaricata*, de dix-neuf à dix-huit jours pour *M. promisca*.

Il est bon d'indiquer que la nourriture donnée aux mouches dans ces expériences consistait en sucre et en matières fécales. Nous verrons plus loin combien les conditions d'alimentation influent sur la fécondité. On peut se demander si l'insuffisance

(1) *Ind. Journ. med. Res.*, 8, n° 1, juillet 1920.

alimentaire n'est pas la cause du pouvoir multiplicateur relativement faible constaté pour ces espèces.

Les expériences que j'ai réalisées sur la mouche domestique et dont les premiers résultats ont été déjà sommairement exposés (1) me permettent de penser que la fécondité de cette mouche est notablement plus grande que celle qu'on lui suppose généralement.

Je me suis attaché, au cours de l'été et de l'hiver de 1920, à préciser dans la mesure du possible nos connaissances sur la question. Si les conditions de la captivité sont loin d'être comparables à celles de la nature, elles constituent cependant une base minima pour permettre d'apprécier le développement normal des phénomènes; mais celui-ci doit être considéré comme dépassant certainement, dans la moyenne, les résultats obtenus par des voies artificielles.

Méthode d'étude.

J'ai réussi assez aisément à réaliser l'élevage en série de la mouche domestique, de générations en générations, même en hiver, en faisant usage d'un modèle de cages en mousseline analogue à celui dont j'ai donné la description pour l'éducation expérimentale des mouches tsétsés (2). Ces cages rectangulaires étaient de deux types différents. L'un, le plus petit, bas et étroit, mesurait 14 centimètres de longueur pour 8 centimètres de largeur et seulement 4 centimètres de hauteur. Nous verrons plus loin que ce modèle, très favorable pour l'étude des Glossines, convient mal à la mouche domestique. L'autre modèle (fig. 1), de dimensions beaucoup plus fortes quoique encore réduites, mesurait 40 centimètres de longueur, pour 20 centimètres de large et 18 centimètres de hauteur.

Les mouches pouvaient être introduites dans la cage à l'aide d'une manche latérale. La nourriture et l'eau étaient données à l'extérieur, sur des bandes de coton hydrophile déposées sur la face supérieure des cages.

Quant à la face inférieure, elle reposait sur une nappe mince

(1) *C. R. Acad. des Sciences*, **173**, novembre 1921, p. 1126.
(2) *Bull. Soc. Path. Exot.*, 10, n° 7, 11 juillet 1917.

de crottin de cheval placée dans un plateau de zinc. La ponte se faisait par conséquent à l'extérieur de la cage, les mouches introduisant leur oviscapte à travers les mailles de la mousseline pour atteindre la couche de fumier. Ce dispositif qui permet d'éviter toute souillure des mouches captives, puisque les substances nécessaires à l'alimentation ou à la ponte sont extérieures à la cage, convient très bien à la conservation et à une étude relativement prolongée des mouches domestiques.

Journellement, les œufs pondus étaient recueillis et placés

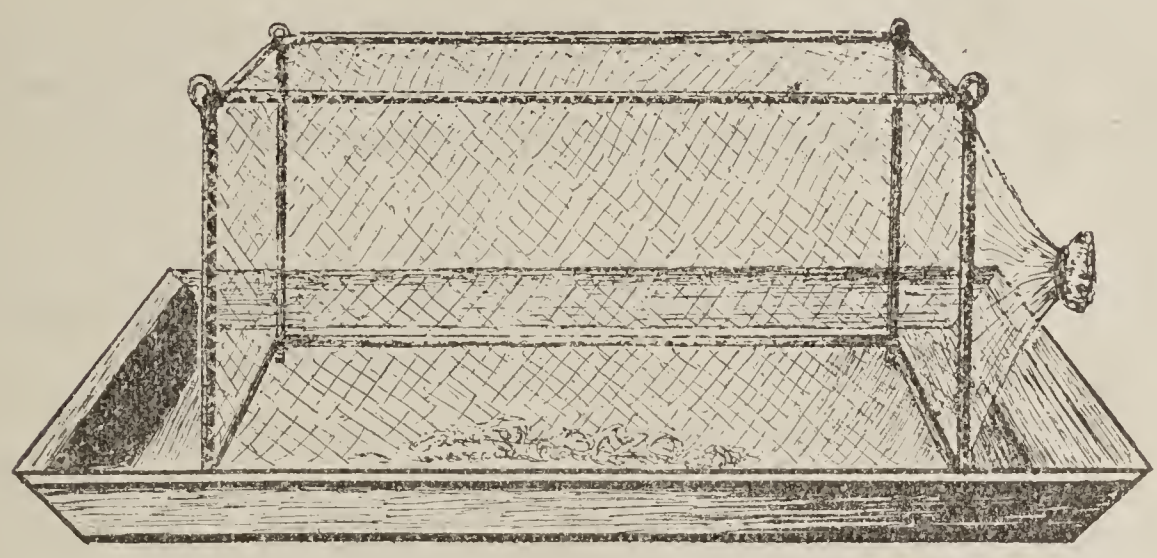


Fig. 1. — Dispositif utilisé pour l'éducation expérimentale de la mouche domestique : Cage de 40 × 20 × 18 centimètres, à parois de mousseline, reposant sur un plateau de zinc qui renferme le milieu de ponte (crottin de cheval), extérieur à la cage.

dans des boîtes de bois de 25 × 15 centimètres, renfermant du crottin frais de cheval où se faisait le développement. Afin de rendre comparables les conditions alimentaires, toutes les fois qu'il n'y a pas eu lieu d'étudier l'influence du régime sur la ponte j'ai fait usage, pour la nourriture des mouches, de *lait concentré* sucré, qui représente un aliment complet d'emploi commode et très favorable.

Pendant tout l'hiver, les générations ainsi obtenues et alimentées se sont succédé à l'étuve à 20-25°. A part une diminution dans la taille, je n'ai remarqué aucune tendance particulière à l'épuisement, si ce n'est une capacité de ponte un peu plus réduite, mais qui est en rapport avec la réduction de taille des sujets.

Succession des pontes. Fécondité.

Les mouches nouvellement écloses, à la température indiquée, ont commencé à pondre du sixième au dixième jour.

Ainsi, des mouches de deuxième génération écloses le 15 décembre donnent leur première ponte le 21 (sixième jour).

Des mouches nées le 17 mars donnent leur première ponte le 27 (dixième jour).

Des mouches nées le 10 novembre donnent leur première ponte le 18 (huitième jour).

Il s'agit là de mouches placées dans les cages de grand modèle. Dans les petites cages, pour les mêmes conditions de température, la première ponte a demandé une douzaine de jours.

Toutes les mouches ne sont d'ailleurs pas fécondes exactement au même moment. C'est seulement au bout de quatre à cinq jours que le plein de la ponte se manifeste. Ainsi, dans une cage renfermant 166 mouches femelles écloses le 10 novembre, une première série de pontes donnant un millier d'œufs a commencé le 18 novembre, et, jusqu'au 22, les pontes journalières observées n'ont pas dépassé 1.400 œufs. A partir du 22, le chiffre journalier s'est brusquement élevé à plus de 3.000. Mais, ces variations peuvent tenir à la contrainte réalisée, dans les conditions de la captivité, pour l'accouplement ou la recherche de milieux favorables à la ponte. Quoi qu'il en soit, on peut estimer que dans la moyenne, pendant les mois d'été, une mouche femelle est apte à déposer ses premiers œufs *moins d'une semaine après sa sortie de la pupe.*

Les conditions de dépôt des œufs sont grandement influencées par la lumière. Les cages étant placées dans une étuve obscure, les pontes jalonnaient toujours le bord le plus éclairé de la cage. Elles étaient aussi, le plus souvent, groupées dans certaines parties plus favorables de la masse de crottin ; on voyait ainsi les mouches pondre à plusieurs, avec insistance, dans quelques places déterminées. Dans la captivité, comme dans la nature, le chimiotropisme paraît jouer un rôle important dans l'attraction de ponte, mais les influences excitatrices de cette dernière n'ont pu être encore déterminées. Elles sont liées sans

doute à une fermentation active, productrice de gaz carbonique, dont il est facile de constater, *in vitro*, l'action stimulante sans doute par voie réflexe, sur les mouvements de l'abdomen et la dévagination du tube de ponte (oviscapte). (Voir *Mémoire précédent*).

La succession des pontes pour une même mouche, malgré l'uniformité des conditions d'alimentation et de température, n'est régulière ni dans ses périodes, ni dans le nombre des œufs produits. Les périodes de ponte peuvent s'espacer à des intervalles variant de trois jours à plusieurs semaines. Il est possible que dans la nature elles soient plus régulières, car les conditions mêmes du maintien en captivité paraissent influer beaucoup sur cette régularité.

Nous avons noté, par exemple, les successions de pontes suivantes dans les petites cages.

Expérience 53. — *Mouche de 3e génération au laboratoire. Eclose le 25 février.*

SUCCESSION DES PONTES	DATES	NOMBRE DES ŒUFS
1re ponte	9 mars	32
2e —	18 —	65
3e —	22 —	67
4e —	26 —	65
5e —	2 avril	33
6e —	14 —	25
7e —	18 —	45
8e —	22 —	59

Expérience 55. — *Mouche de 3e génération. Eclose le 25 février.*

1re ponte	9 mars	61
2e —	2 avril	53
3e —	6 —	50
4e —	11 —	45

Expérience 68. — *Mouche éclose au dehors. En cage le 25 février.*

1re ponte	11 mars	93
2e —	14 —	55
3e —	24 —	54

Toutes ces expériences réalisées dans les cages du petit modèle ne donnent qu'une idée insuffisante de la fécondité relative. Dans le plus grand modèle de cage les pontes ont été beaucoup plus régulières en général et plus abondantes. On en jugera nettement par le relevé ci-après dans lequel il faut

cependant tenir compte des groupements d'œufs produits par plusieurs femelles, les chiffres supérieurs à 100 œufs n'exprimant certainement pas la fécondité d'une mouche isolée.

Expérience 70. — 6 *mouches femelles*, 1 *mâle. Ecloses le* 17 *mars*

SUCCESSION DES PONTES	DATES	NOMBRE DES OEUFS
1re ponte	27 mars	90
2e —	29 —	226
3e —	1er avril	197 + 85
4e —	2 —	211
5e —	4 —	117
6e —	6 —	135 + 54
7e —	10 —	147 + 64
8e —	12 —	15
9e —	13 —	155 + 93
10e —	14 —	17 + 25 + 57
11e —	15 —	62
12e —	16 —	10
13e —	18 —	290
14e —	19 —	111
15e —	21 —	161
16e —	22 —	46
17e —	25 —	202 + 40 + 82

A cette date, trois des mouches sont mises à part, et chacune est placée individuellement dans une cage de petit modèle. Dans la grande cage restent trois mouches femelles. Le tableau ci-après exprime la suite des observations relatives aux trois mouches de la grande cage (colonne A) et aux isolées des petites cages (colonnes B, C et D). Les croix indiquent la date de mort. La colonne A exprime les pontes des trois mouches réunies jusqu'au 8 mai; jusqu'au 25 celles des deux survivantes, et à partir de cette date celles de la dernière, qui est morte le 1er Juin.

Cette expérience montre nettement l'influence défavorable qu'exercent les cages de petites dimensions sur la production en œufs et la longévité relative de la mouche domestique. Toutes les mouches isolées dans les petites cages sont mortes en quelques jours, l'une d'entre elles (B) sans donner aucune ponte. Nous reviendrons sur ce sujet ultérieurement.

Dans la grande cage, au contraire, les pontes se sont maintenues jusqu'à un maximum de deux mois et demi. Faut-il penser qu'à cette date, représentant à peu près le maximum de durée que j'aie pu observer dans des cages maintenues à tem-

DATES	NUMÉRO des pontes	A NOMBRE des œufs	B NOMBRE des œufs	C NOMBRE des œufs	D NOMBRE des œufs
26 avril. . .	»	»	»	»	»
27 — . . .	18e	»	»	102	»
28 — . . .	19e	10	»	»	»
29 — . . .	20e	»	»	»	21
30 — . . .	21-22e	36	»	62	»
1er mai . . .	23e	27	»	»	»
2 — . . .	»	»	»	»	»
3 — . . .	»	»	»	»	+
4 — . . .	24e	107	»	+	
5 — . .	»	»	»		
6 — . .	»	»	+		
7 — . . .	25e	88			
8 — . . .	»	+			
9 — . . .	26e	76			
10 — . . .	»	»			
11 — . . .	27e	48			
12 — . . .	»	»			
13 — . . .	»	»			
14 — . . .	»	»			
15 — . . .	28e	29			
16 — . . .	»	»			
17 — . . .	»	»			
18 — . . .	»	»			
19 — . . .	»	»			
20 — . . .	29e	42			
21 — . . .	»	»			
22 — . . .	»	»			
23 — . .	30e	44			
24 — . . .	»	»			
25 — . . .	+	»			
26 — . . .	31e	40			
27 — . . .	»	»			
28 — . . .	»	»			
29 — . . .	»	»			
30 — . . .	»	»			
31 — . . .	32e	16			
1er juin . . .	»	+			

pérature élevée (20-25° de moyenne thermique), le pouvoir reproducteur des mouches se trouve réellement éteint? Je ne le suppose pas, car l'examen d'une mouche morte après soixante-neuf jours de captivité et de ponte a montré qu'elle renfermait encore une centaine d'œufs en état de maturité dans les ovaires, et un grand nombre d'ovules immatures dans les culs-de-sac des gaines ovariques. Les conditions de fécondité observées dans la captivité ne représentent donc certainement pas le maximum de reproduction possible dans les conditions naturelles.

La longévité maxima observée à la température indiquée (1) fut de soixante-seize jours. Au cours du premier mois, dans la grande cage ci-dessus, les 6 mouches ont produit ensemble un total de 2.692 œufs, soit *105 œufs environ par semaine et par mouche*. Dans le deuxième mois, du 27 avril au 27 mai, les mouches étant plus ou moins frappées par la perte des ailes, cette production a été inférieure environ de moitié : elle n'a guère dépassé la moyenne de 50 œufs par semaine et par mouche.

Il semble d'ailleurs qu'il existe de grandes variations individuelles dans la fécondité des femelles. Dans la petite cage B, par exemple, aucune ponte n'a été relevée, tandis que dans la cage C, 164 œufs ont été pondus dans l'espace de quatre jours. Les moyennes constatées dans mes expériences, quelque inférieures qu'elles puissent être à celles de la nature, permettent cependant d'affirmer qu'au cours de deux mois chauds une mouche, en captivité, peut pondre effectivement un total de 600 œufs, conformément aux prévisions d'ordre anatomique de Hewitt. Mais si l'on se réfère à la chute brusque de la fécondité à partir du moment où les mouches commencent à souffrir notablement de la captivité, tout porte à croire que le chiffre de 600 œufs n'est qu'un minimum. Dans la nature, où les multiples conditions d'épuisement précoce inhérentes à la captivité n'interviennent pas, ce chiffre doit être certainement beaucoup plus élevé, et je crois pouvoir estimer qu'au cours de deux mois et demi d'existence, en été, une mouche femelle vivant à l'état libre doit être susceptible de pondre environ *un millier d'œufs*.

(1) Cette température fut assez irrégulière en fin avril et mai, et les mouches eurent à subir plusieurs fois dans la journée des températures dépassant 25°, jusqu'à 28°.

Conditions influençant la Fécondité. Rôle du vol et de l'alimentation.

La fécondité comme la longévité de la mouche domestique se montrent, en effet, grandement influencées par les conditions diverses auxquelles l'insecte peut être soumis. Je n'envisagerai pas ici l'action de la température, qui est évidente ; d'autres facteurs, moins connus, peuvent également modifier totalement les facultés de reproduction des mouches femelles.

A. Influence du vol sur la fécondité. — Le *confinement* exerce, nous l'avons déjà vu, une action manifeste sur la biologie des mouches : la durée de la vie est abrégée et la ponte plus ou moins réduite, parfois entravée complètement dans les cages de petites dimensions. Tandis que 6 mouches sur 6 ont dépassé quarante jours d'existence dans la cage de 40 × 18 × 20 centimètres, sur 5 mouches placées dans les petites cages de 4 × 8 × 14 centimètres, 2 seulement ont dépassé un mois d'existence. Le tableau donné pour l'expérience 70 montre nettement la mortalité précoce des mouches dans ces conditions.

Si l'on considère également la production des œufs, on voit que celle-ci est aussi remarquablement réduite dans les petites cages. L'expérience 70 en donne déjà une idée, mais la comparaison des pontes, pour des mouches nouvellement écloses et dans le cours de leur premier mois d'existence, est plus suggestive encore. Ainsi, sur 4 mouches placées dans de semblables conditions, en cages de petit modèle, les chiffres suivants ont été notés pour un même mois d'existence :

1re mouche. . .	97 œufs	mouches de 1re génération en captivité.
2e — . . .	202 —	
3e — . . .	164 —	mouches de 3e génération en captivité.
4e — . . .	61 —	

Ces chiffres correspondent à une moyenne de *131* œufs par mois et par mouche. Pour les mouches placées dans le grand modèle de cage, au contraire, la moyenne correspondante était de *448*, pour les mêmes conditions d'alimentation et de température. Enfin, l'examen de la fécondité relative de trois mouches, dont une des ailes avait été coupée de manière à

entraver le vol dès l'origine, m'a permis de noter une moyenne de 58 œufs seulement par semaine et par mouche, ce qui traduit bien l'influence défavorable sur la ponte de la perte des ailes.

Le *confinement*, en effet, paraît agir surtout en entravant le vol et ses conséquences physiologiques normales. En définitive, c'est le défaut de vol qui, dans les cages, paraît surtout nuisible au développement normal de la fécondité. En effet, dans les grandes cages, tant que les ailes des insectes ne sont pas lésées de manière à entraver le vol, les pontes sont abondantes et la vie normale. Mais dès le deuxième mois d'existence en cage, les ailes sont, en général, plus ou moins brisées par le choc contre les parois de mousseline ; à ce moment la ponte diminue, comme nous l'avons vu, de façon très nette. Lorsque les mouches ne sont plus aptes à voler, elles ne tardent pas à mourir, quelles que soient les précautions prises pour les alimenter.

Toutes ces données font qu'il est difficile de comparer les résultats des pontes au deuxième mois de captivité avec ceux qui pourraient être obtenus dans les conditions naturelles.

A la même action défavorable du défaut de vol, se rattache celle de l'isolement, déjà étudiée pour les mouches de l'Inde par Awati. J'ai constaté que les mouches domestiques isolées dans des cages manifestent une fécondité moins précoce et une ponte moins abondante que celles qui sont réunies à plusieurs dans les mêmes conditions de captivité. Ainsi, dans deux cages de petit modèle ont été isolées deux femelles écloses le 6 février ; l'une des femelles a les deux ailes intactes, l'autre a une aile sectionnée. Le 15 février les deux mouches sont tuées et examinées. Aucune n'est encore apte à la ponte. La numération des œufs développés dans un des ovaires donne pour une mouche 55 œufs, 54 pour la seconde.

Comme témoins, une vingtaine de mouches ont été réunies dans une troisième cage de mêmes dimensions que les deux autres. Ces mouches groupées, de même âge que les précédentes, ont commencé à déposer leurs œufs le 14 février. Deux d'entre elles, sacrifiées le 15, montrent dans l'un des ovaires respectivement 61 et 63 œufs. Une mouche dont les ailes ont été sectionnées, placée parmi les autres, n'a pas pondu et montre

à l'examen, dans l'un des ovaires, 56 œufs seulement en voie de maturation.

La fécondité moindre des mouches isolées ne s'explique que par le défaut d'activité et de mouvements : réunies en grand nombre dans un même local, les mouches s'obligent les unes les autres à des déplacements incessants dont le résultat se traduit par un métabolisme plus actif, favorable à la fécondité.

B. Influence de l'alimentation sur la fécondité des mouches. — L'alimentation exerce également une influence marquée sur la fécondité. Un régime contenant des éléments azotés est *nécessaire* pour la production des œufs. Nourries de sucres purs ou de matières sucrées exclusives, les mouches ne pondent pas. Elles restent stériles jusqu'à leur mort, quoique capables d'une survie relativement longue. Si l'on introduit dans ce régime sucré exclusif un régime azoté, la ponte devient possible ; elle cesse à nouveau si ce régime azoté est interrompu. C'est ce que démontrent les expériences suivantes :

Expérience 54. — Dans une cage de petit modèle ont été placées une vingtaine de mouches nouvellement écloses, le 25 février. Comme aliment solide, les mouches n'ont reçu que des sucres variés (saccharose, glucose, lactose, miel, confiture). Aucune ponte n'a été observée. Les mouches, quoique gorgées de sucre, sont mortes rapidement. Le 19 avril aucune n'avait survécu.

Expérience 69. — Dans une même cage, de petit modèle, une vingtaine de mouches sont placées le 25 février. L'alimentation est d'abord donnée purement sucrée jusqu'au 14 mars (saccharose, glucose, lactose, miel, confiture). Aucune ponte n'est observée à cette date. La plupart des mouches sont mortes.

A partir du 14, à l'alimentation sucrée est adjoint un léger régime azoté (bouillon peptoné ordinaire pour cultures) suspendu le 31 mars. Le 4 avril, une ponte de 101 œufs est obtenue. Le régime sucré exclusif ayant été maintenu pendant tout le mois d'avril, aucune ponte nouvelle ne s'est produite. La dernière mouche restante meurt le 1er mai.

Les mouches nourries de matières sucrées exclusives traduisent nettement l'insuffisance de ce régime en se gorgeant à l'excès : leur abdomen est constamment distendu de manière exagérée par le liquide sucré ingéré. Il semble que cette suralimentation apparente soit liée à un déficit alimentaire réel produit par l'absence des éléments gras ou azotés indispensables à la production des œufs.

Ce fait n'est point spécial à la mouche domestique. J'ai insisté ailleurs sur l'insuffisance du régime sucré dans l'alimentation des Calliphorines africaines à larves hémophages (1). J'ai relevé le même fait pour la mouche des bestiaux, *Musca corvina*. Il paraît général chez les Diptères et concorde, pour les espèces suceuses de sang, mouches ou moustiques, avec la nécessité d'une alimentation sanguine pour la maturation des œufs. Le besoin d'une alimentation azotée se traduit chez les femelles de la plupart des formes de Diptères suceuses de sang, précisément par l'adaptation au régime hémophage. A l'origine, cette adaptation, pour les raisons indiquées, ne porte en effet que sur les femelles (hémophagie de ponte); elle ne devient que secondairement généralisée aux deux sexes (hémophagie franche ou spécifique).

Alimentation stercorale. Influence comparée sur la ponte d'une nourriture à base d'excréments d'omnivores et d'herbivores. — J'ai montré précédemment que les mouches Calliphorines africaines à larves ectoparasites temporaires (Auchmeromyia, Chœromyia), s'alimentant normalement de jus sucrés dans les conditions naturelles, trouvaient dans les excréments d'omnivores (homme, singes, porcins), au voisinage desquels elles vivent, les ressources azotées nécessaires à la maturation des œufs, et par suite à l'exercice de leur ponte. On pouvait penser *a priori* qu'il en était de même pour la mouche domestique et, effectivement, c'est ce que démontre l'expérience suivante, qui révèle d'autre part l'insuffisance à provoquer la ponte d'une nourriture constituée par des fientes d'herbivores.

Le 7 février, des mouches nouvellement écloses ont été placées dans un récipient d'élevage où elles n'ont eu pour toute nourriture que du sucre (saccharose), des excréments humains et de l'eau. Les premiers œufs ont été pondus le 19 février. Les pontes, quoique relativement peu abondantes, se sont succédé à plusieurs reprises.

Au contraire, des mouches alimentées de sucre et de crottin de cheval n'ont jamais donné aucune ponte.

Ainsi, le crottin de cheval, qui attire tout particulièrement les mouches domestiques femelles aptes à pondre et constitue

(1) Recherches sur les Auchméromyies. *Bull. Scient. France et Belgique*, 7e série, 47, n° 2, 24 juin 1913 et *Etudes Faune Parasit. Afr. Occ. fr.*, Paris, Larose, 1914.

un milieu privilégié pour le développement de leurs larves, ne peut permettre, à lui seul, la maturation des œufs chez les femelles qui s'en nourrissent. C'est un milieu alimentaire défavorable pour l'ovogénèse. Au contraire, les excréments humains qui attirent peu les mouches domestiques et ne servent qu'exceptionnellement de lieu de développement pour leurs larves, constituent un milieu alimentaire favorable pour les femelles.

On trouve fréquemment, lorsqu'on étudie de près les adaptations biologiques de la mouche domestique, de semblables paradoxes entre les influences attirantes qui déterminent le choix des milieux de développement et les propriétés utiles de ces milieux soit pour les larves, soit pour les adultes. Nous venons de voir que ce choix n'est pas guidé par l'intérêt alimentaire propre des pondeuses. Il ne s'exerce pas toujours non plus, semble-t-il, au mieux de l'intérêt des larves. L'attraction de ponte porte par exemple électivement sur un milieu (crottin de cheval) qui n'assure souvent que médiocrement l'alimentation de ces dernières et devient parfois toxique (1) ou dangereux pour elles, alors que d'autres milieux, où le développement des larves pourrait se faire dans les meilleures conditions (fumiers de lapin, de vache, etc.), ne sont que secondairement recherchés, ou sont même totalement négligés par les femelles pondeuses.

Infection par les Empuses. Son action sur la fécondité.

L'infection mycélienne déterminée par l'Entomophtorée parasite, *Empusa muscæ*, ne traduit souvent son action pathologique sur les mouches que d'une manière lente et insensible. Il semble que des variations climatériques brusques, et en particulier l'abaissement de la température, favorisent nettement cette action pathogène, car c'est surtout à l'approche de l'hiver ou dans les saisons humides et froides que la mortalité par les Empuses devient considérable. Quand les conditions

(1) Nous avons observé en 1921 dans le cours de l'été, avec E. Wollman, une mortalité considérable sur les jeunes larves de mouches développées sur le crottin. La cause de cette mortalité, encore indéterminée, paraît être de nature toxique.

thermiques demeurent élevées et sensiblement constantes, la mortalité, même dans un milieu confiné où les possibilités d'infection sont réalisées au maximum, ne se fait sentir que d'une façon très lente. Le parasitisme produit par l'Empuse n'empêche nullement la reproduction des mouches et la ponte se manifeste, malgré l'infection, de façon intense. C'est ce que démontre l'expérience suivante :

Dans une même cage de grand modèle ont été réunis, le 10 novembre, 148 mâles et 166 femelles de mouches domestiques provenant de pupes écloses tardivement sur un tas de fumier normal, à l'extérieur. Ces mouches sont placées à l'étuve à 22-25° et nourries de lait condensé. Le 29 novembre, une première mouche meurt de l'infection produite par l'*Empusa muscæ*. Dans ce milieu confiné, où les mouches sont nombreuses, l'infection se généralise rapidement et, dans les jours qui suivent, parmi les morts journalières on relève toujours des cas d'infection. Vers le 19 décembre, celle-ci se montre absolument générale chez les mouches.

Malgré cette contamination massive, la ponte n'en a pas moins été active. Dans le cours du premier mois de ponte, du 17 novembre au 17 décembre, *28.650 œufs* ont été pondus. A cette date, près de la moitié des femelles sont mortes. Dans les douze premiers jours de l'entrée en ponte chaque femelle a pondu en moyenne 150 œufs, soit une proportion de 84 œufs par semaine et par mouche.

Après un mois de ponte en milieu infecté, 67 femelles ont encore pondu pendant trois jours un total de 2.000 œufs, correspondant à une moyenne de 77 œufs par semaine et par mouche. La ponte s'est poursuivie jusqu'au 27 décembre, réduite progressivement par une mortalité de plus en plus intense des mouches infectées.

On voit donc que l'infection par l'*Empusa muscæ* ne provoque pas nécessairement la stérilité des mouches. Elle n'empêche pas celles-ci de se reproduire pendant un temps assez long, lorsque les conditions extérieures ne favorisent pas l'action pathogène du parasite. C'est seulement après plus d'un mois de captivité que nous avons vu la mortalité s'affirmer de façon notable chez des mouches maintenues à l'étuve, dont certaines ont pu cependant atteindre une longévité assez voisine de celle qui se manifeste dans les cages non contaminées. Le maximum de survie observé a été de cinquante-deux jours (1).

(1) Il semble que les conditions d'alimentation larvaire puissent favoriser l'action pathogène de l'Empuse. Sur des mouches nourries à l'état de larves sur des milieux anormaux (muqueuse gastrique, testicule de rat) l'épidémie, malgré les conditions de l'étuve, s'est manifestée de façon beaucoup plus sévère, entraînant la mort de tout l'élevage en quelques jours.

Nous n'avons pas observé, d'autre part, d'hérédité de l'infection. Les œufs provenant des mouches de la cage contaminée n'ont donné lieu à aucun cas d'infection spontanée chez les mouches qui en sont issues.

Pouvoir de multiplication des mouches. Calcul des générations.

En tenant compte des données acquises sur les facultés de développement et de multiplication des mouches, d'après les expériences que nous avons exposées, on peut reconnaître que le chiffre théorique donné par Howard pour le calcul du pouvoir générateur est certainement, quoique énorme, très inférieur à la réalité.

Sur les tas de fumier en pleine fermentation, pendant les mois chauds, l'évolution totale de la mouche domestique, de l'œuf à l'éclosion de l'insecte adulte, ne demande souvent pas plus de *six jours*. C'est du sixième au neuvième jour que, dans mes expériences sur le fumier de cheval, je recueille habituellement les mouches adultes issues des œufs. Or, à une moyenne de 20°, la ponte de ces mouches nouvellement écloses peut survenir au bout de six jours. C'est donc un délai de douze à quinze jours que requiert en été le cycle total d'une génération développée sur le fumier de cheval, pour donner naissance aux œufs d'où procédera une deuxième génération.

Pour calculer la descendance théorique d'une mouche, du 1er mai au 30 septembre, j'ai admis comme moyenne, pour le développement de chaque génération, le chiffre de dix-huit jours qui est, par conséquent, bien inférieur à la réalité possible. J'ai supposé de plus, afin de faciliter le calcul, que chaque femelle ne produirait qu'une seule ponte de 100 œufs, le dix-huitième jour de son existence, ce qui, nous l'avons vu, est bien loin de représenter la fécondité réelle, laquelle dépasse certainement 600 œufs au cours de pontes successives. En admettant que, pour chaque génération, la moitié des individus formés sont des mâles et le reste des femelles, notion sensiblement conforme aux conditions courantes, on peut calculer de la façon suivante la descendance, au 30 sep-

tembre, d'une femelle unique qui aurait produit 100 œufs le 1er mai.

DATES	NOMBRE des œufs	NOMBRE des femelles produites	NOMBRE des mâles
1er mai . . .	100	50	50
18 — . . .	5.000	2.500	2.500
5 juin . . .	250.000	125.000	125.000
23 — . . .	12.500.000	6.250.000	6.270.000
11 juillet . .	625.000.000	312.500.000	312.500.000
29 — . . .	31.250.000.000	15.625.000.000	15.625.000.000
16 août . . .	1.562.500.000.000	781.250.000.000	781.250.000.000
3 sept. . . .	78.125.000.000.000	39.062.500.000.000	39.062.500.000.000
21 — . . .	3.906.250.000.000.000	1.953.125.000.000.000	1.953.125.000.000.000
Total général.	3.985.969.387.755.100	1.992.984.693.877.550	1.922.984.693.877.550

Ainsi, à supposer que tous les individus échappent aux influences de mortalité diverses avant leur ponte, on voit qu'à la fin de l'été, une seule mouche, en cinq mois de générations successives, aura pu donner naissance à près de *4.000 trillions d'individus.*

Malgré son énormité, ce chiffre ne représente pourtant que de très loin les possibilités théoriques de multiplication de la mouche domestique. Nous avons montré, en effet, que chaque femelle peut produire un nombre d'œufs au moins six fois plus élevé que le nombre pris comme base. Pour la plupart des générations en cause, il faudrait donc répéter six fois les calculs qui précèdent. On aboutirait ainsi rapidement à un total qui dépasse l'imagination.

La puissance multiplicatrice ainsi entrevue de la mouche domestique ne représente, bien entendu, qu'une donnée théorique. Nombre de causes interviennent heureusement, dans la nature, pour en restreindre la portée. Il n'en subsiste pas moins, à l'actif de cet insecte, un pouvoir latent de développement d'une vigueur singulière et toujours prêt à se manifester. Ceci nous fait mieux concevoir le caractère particulièrement ardu d'une lutte systématique contre cette mouche. Aussi bien vaudra-t-il mieux tenter de prévenir son évolution, que de la détruire. En pareille matière, la suppression préven-

tive des fumiers, des ordures, de tous les milieux de fermentation propres au développement des mouches sera toujours d'un bénéfice plus assuré que le traitement larvicide de ces milieux, ou les tentatives de destruction des mouches lorsqu'elles sont parvenues à leur forme adulte.

BIOLOGIE DE LA MOUCHE DOMESTIQUE ET DES LARVES DE MOUCHES A VIANDE, EN ÉLEVAGES ASEPTIQUES

par E. WOLLMAN.

Tous ceux qui ont eu à s'en occuper connaissent les très grandes difficultés que présentent l'élevage ou même simplement la conservation de la mouche domestique en captivité; de là le manque de précision dans les données que nous possédons sur la longévité et la fécondité de cet insecte. On trouvera ci-dessus, dans l'article de M. Roubaud, l'exposé de nos connaissances sur ces questions ainsi que la description de la technique qui a permis à cet auteur de les préciser et de les étendre. Nous y ajouterons quelques observations que nous avons pu faire au cours d'expériences sur les mouches aseptiques.

Indépendamment de l'intérêt qu'il y avait à établir l'influence que la présence des micro-organismes pouvait avoir sur la longévité (*cf.* Metchnikoff), on pouvait, en effet, se demander si les résultats obtenus avec les élevages ordinaires en captivité n'étaient pas faussés par des infections intercurrentes à la faveur, notamment, des lésions (brisure des ailes, etc.) qu'on observe constamment chez les mouches dans ces conditions (1).

Nous considérerons successivement la question de la longévité, celle de la durée du cycle de développement, celle de la fécondité.

Nous ajouterons ensuite quelques observations sur la nutrition de larves de mouches en général.

(1) Ces *Annales*, **25**, p. 79, et **35**, p. 431.

Technique.

On en trouvera la description détaillée ailleurs. Les mouches aseptiques une fois écloses étaient transportées (en se servant du phototropisme positif très prononcé de ces insectes) soit dans des tubes à essai, soit dans de petits ballons de 250 cent. cubes garnis de coton hydrophile imbibé de lait stérilisé.

Longévité.

Pour quelques mouches placées dans ces conditions, à la température de 24-26°, nous avons relevé les données suivantes :

Une mouche a vécu du	18 août au 18 septembre. . .	(31 jours).
—	—	21 août au 16 septembre. . .	(26 jours).
—	—	23 août au 21 septembre. . .	(29 jours).
—	—	15 octobre au 15 décembre. .	(61 jours).
—	—	4 mars au 5 mai	(62 jours).

Ce dernier chiffre qui représente le maximum observé a été obtenu pour une mouche gardée constamment en tube à essai. Pareil résultat eût été à peu près impossible à obtenir dans les conditions ordinaires. L'absence de micro-organismes semble donc influer favorablement sur la longévité des mouches en captivité, et il est probable que le chiffre observé n'est pas très éloigné de la durée de vie *optimum* de la mouche domestique à la température donnée.

Durée du cycle de développement.

1° Mouches domestiques écloses le 3 novembre, s'accouplent le 9 novembre ; on trouve de petites larves le 15 novembre et des pupes le 22 novembre, des mouches nouvellement écloses le 27 novembre (vingt-quatre jours).

2° Mouches écloses le 12 novembre ; jeunes larves du 18 au 20 décembre ; pupes 28 décembre ; mouches de nouvelle génération le 4 janvier (vingt-trois jours).

La durée du cycle complet, de la mouche à la mouche, a donc été, dans les conditions dans lesquelles nous nous sommes placés, de vingt-trois à vingt-quatre jours.

Fécondité.

Nous avons observé, même pour des mouches de la troisième génération aseptique, 4 et 5 pontes successives. Le nombre total des œufs n'a pu être compté qu'une seule fois, chez une femelle non fécondée : il a été de 429. Les pontes étant disposées sur du coton, un certain nombre d'œufs nous a certainement échappé et la quantité réelle devait être légèrement supérieure au chiffre relevé.

Nutrition des larves de mouches.

Cette question a donné lieu à des opinions très différentes. La conformation des pièces buccales et des voies digestives antérieures ne permet aux larves d'absorber que des aliments liquides, et on a depuis longtemps constaté, en effet, que les cadavres sur lesquels se développent des larves de mouches subissent une liquéfaction rapide. Fabre (1) admettait que les larves déversent au dehors des ferments protéolytiques et absorbent ensuite les produits liquides de la digestion. L'illustre naturaliste a pu constater, en effet, que de deux tubes renfermant chacun un peu de blanc d'œuf coagulé ou de viande, seul celui dans lequel on déposait des larves de mouche (*Lucilia*) présentait une liquéfaction rapide, le témoin, quoique contaminé, restant intact.

Pour Guyénot (2) le résultat noté par Fabre s'expliquerait non par l'action de ferments excrétés par les larves, mais bien par celle de germes protéolytiques que celles-ci ensemencent abondamment en labourant le milieu. « Vivant dans un milieu putréfié, les larves qui ne peuvent se nourrir que de liquides, absorbent comme aliment ceux qui résultent de la liquéfaction des matières albuminoïdes... Il en résulte que le travail digestif de la larve est réduit au minimum ; l'animal s'adapte à cette situation en négligeant de sécréter des ferments solubles qui seraient superflus » (*loc. cit.*, p. 368). Cette conclusion, Guyénot y est arrivé après de nombreux essais infructueux de mettre

(1) *Souvenirs entomologiques*, **9**, p. 227.
(2) *Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*, **41**, p. 353.

en évidence la production de tels ferments par les larves. Des extraits aqueux ou glycérinés préparés en broyant tantôt des larves entières, tantôt des glandes salivaires ou gastriques isolées, n'ont jamais permis à cet auteur de constater la moindre action digestive sur les albumines, les graisses ou l'amidon.

Or rien n'est plus facile que de constater cette action digestive de ferments déversés au dehors par les larves, dont parlait Fabre. Il suffit de porter une larve aseptique (les expériences ont porté sur celles de *Calliphora* et de *Lucilia*) sur de la gélatine pour voir celle-ci se liquéfier rapidement; ou bien de verser de la gélatine dans un tube dans lequel s'était développée une telle larve : la gélatine reste définitivement liquide. En préparant des extraits glycérinés avec la bouillie aseptique ayant servi à l'alimentation des larves, on peut y constater la présence de protéases (gélatine, blanc d'œuf coagulé), d'amylase (empois d'amidon), d'érepsine, dosage de l'Az aminé (1). Les larves aseptiques semblent donc présenter un matériel de choix pour l'étude des ferments chez les insectes.

Il va de soi que dans la nature l'action des bactéries protéolytiques peut s'ajouter à celle des ferments solubles excrétés par les larves. De même, dans certaines conditions particulières, le rôle des micro-organismes dans la nutrition des larves peut prendre de l'importance et cela non seulement en raison de la production de ferments. Lorsque la nourriture consiste en viande stérilisée à température très élevée, par exemple, le développement des larves est beaucoup plus rapide en présence de bactéries (protéolytiques ou non) qu'en leur absence (2). Récemment, nous avons obtenu des résultats encore plus marqués avec du jaune d'œuf coagulé et stérilisé à 120°; ici encore, le développement ne se fait normalement qu'en présence de bactéries, protéolytiques ou non. Il est vraisemblable que dans ces conditions très artificielles les corps microbiens servent, par eux-mêmes, à un certain degré, à la nutrition des larves. C'est ainsi que nous avons obtenu le développement complet de larves de mouche domestique en les nourrissant de

(1) Observation de Mme Montoloy.
(2) Ces *Annales*, 25, p. 79.

culture de bacille typhique sur gélose inclinée; la taille des insectes parfaits était, toutefois, inférieure à la normale (1).

Lorsque les larves sont placées dans des conditions favorables (viande crue ou stérilisée à basse température pour les mouches à viandes, crottin de cheval stérilisé pour la mouche domestique) le développement se fait parfaitement en absence des micro-organismes. Fait important, il en est encore de même avec une nourriture stérilisée à température très élevée lorsque sa consistance n'est pas trop modifiée par le chauffage. C'est ainsi que les larves de *Calliphora* et de *Lucilia* se développent normalement sur de la cervelle stérilisée à 134° pendant 1 h. 30 et plus (2). Or il est absolument impossible d'assurer le développement des vertébrés supérieurs avec une nourriture traitée de telle façon, en raison de la destruction des vitamines. Il semble y avoir une différence remarquable à ce point de vue, dans les besoins des animaux supérieurs et ceux de larves de mouches (d'insectes en général). Nous avons cherché à élucider cette question (3), mais, étant donnée l'adaptation étroite des larves à une alimentation particulière, il a été impossible d'appliquer les procédés couramment employés dans l'étude des vitamines. Les recherches ont donc été étendues à des insectes moins exigeants : nous espérons pouvoir en faire connaître prochainement les résultats.

(1) Cf. *C. R. Soc. Biol.*, **78**, p. 195.
(2) *C. R. Soc. Biol.*, **82**, p. 593.
(3) *C. R. Soc. Biol.*, **82**, p. 1208.

OBSERVATIONS SUR UNE MÉTHODE MYCOLOGIQUE POUR LA RECHERCHE ET L'IDENTIFICATION DE CERTAINS SUCRES ET AUTRES HYDRATES DE CARBONE

par Aldo CASTELLANI et Frank E. TAYLOR.

La propriété que possèdent certains hyphomycetes (saccharomyces, etc.) de faire fermenter la glucose, et dont on s'est servi pendant plusieurs années comme méthode usuelle de recherches de ce sucre dans l'urine, est un fait bien connu, mais nous désirons ici appeler l'attention sur une méthode mycologique servant à identifier quelques autres sucres et hydrates de carbone, méthode conçue théoriquement par l'un de nous, Castellani, il y a quelques années à Ceylan, et récemment élaborée et appliquée à la pratique par nous deux, en collaboration, à Londres.

Ainsi qu'il a déjà été dit, la levure ordinaire (levure de boulanger ou levure de bière) est employée depuis de nombreuses années dans la recherche de la glucose, mais c'est là l'unique substance vis-à-vis de laquelle cette méthode ait été employée en pathologie; d'ailleurs, ce moyen de découvrir la glucose considérée comme spécifique dans de nombreux ouvrages de pathologie n'est pas spécifique, car, à notre connaissance, la levure ordinaire fait fermenter d'habitude non seulement la glucose, mais aussi la lévulose, la galactose, la maltose, la saccharose, et quelquefois même la lactose. Si un spécimen d'urine subit une fermentation avec production de gaz après addition de levure ordinaire, il ne s'ensuit pas que cette urine contient de la glucose ; il peut s'y trouver de la lévulose, galactose ou maltose, voire même de la lactose. Pour découvrir et identifier la glucose de façon certaine, il est donc nécessaire d'employer un micro-organisme qui n'affectera que ce sucre, et aucun autre. Nous avons ce micro-organisme dans la *Monilia balcanica* Cast. qui ne fait fermenter aucune autre substance que la glucose. Pour ce qui est de la recherche et de l'identi-

fication des autres sucres, tels que la maltose, la galactose, etc..., nous n'avons malheureusement aucun champignon — et il semble même qu'il n'en existe pas dans la nature — ne choisissant qu'un seul de ces composés carbonés, à l'exclusion de tous les autres : des champignons qui, par exemple, ne feraient fermenter que la maltose seulement, la galactose seulement, l'inuline seulement, etc... Cependant, il est possible d'identifier ces diverses substances en se servant de notre méthode mycologique que l'on pourrait encore appeler : *Méthode mycologique conjuguée ou parallèle*, car, pour la recherche, nous n'employons pas une espèce de champignons, mais deux ou davantage, en comparant leur action sur la substance à identifier. Pour appliquer notre méthode en vue de déterminer si une substance est ou n'est pas un hydrate de carbone donné, le moyen le plus simple est de se rendre compte, quand la chose est possible, de l'action, sur la substance, de deux germes dont les réactions fermentatives sont connues pour être identiques, sauf à l'égard de cet hydrate de carbone. Par exemple, pour savoir si une substance chimique quelconque est de la maltose, on pourra procéder à des expériences sur cette substance à l'aide de deux micro-organismes identiques dans toutes leurs réactions bio-chimiques, sauf cependant dans leur action sur la maltose, l'un la faisant fermenter et l'autre pas. Nous allons donner quelques exemples : l'identification de la lévulose, maltose, galactose, lactose, saccharose et inuline.

Identification de la lévulose.

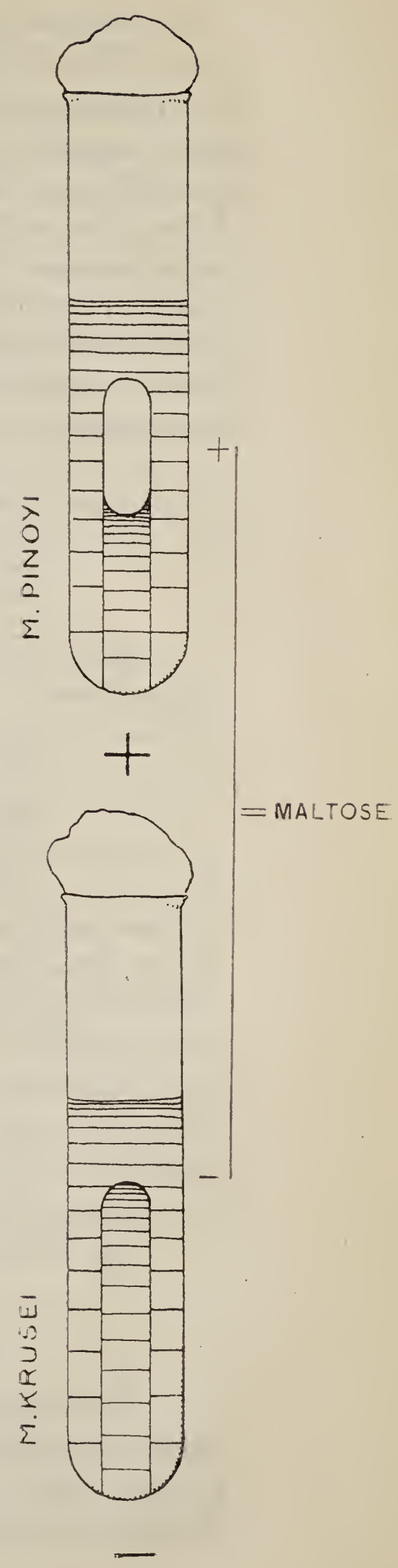
Supposons que nous désirions déterminer si une substance donnée est de la lévulose. On fera une solution stérile à 1 p. 100 de la substance à identifier dans de l'eau peptonée stérile, que l'on répartira dans deux tubes (n°s 1 et 2), pourvus chacun d'un tube à fermentation. On ensemencera *Monilia krusei* Castellani au tube n° 1 et *Monilia balcanica* Castellani au tube n° 2. Ceux-ci seront ensuite mis à l'étuve à 35° pendant soixante-douze heures, après quoi on examinera les résultats. Si le tube n° 1 *Mon. krusei* Cast. contient du gaz et si par contre n° 2 (*Mon. balcanica* Cast.) n'en contient pas, la substance dont il s'agit doit être de la lévulose. Ceci se comprend aisément si l'on se

souvient que *Mon. krusei* ne fait fermenter que la glucose et la lévulose, et que *Mon. balcanica* ne fait fermenter que la glucose. La substance qui fait l'objet de notre expérience a été fermentée par *Mon. krusei*; elle doit donc être soit de la glucose, soit de la lévulose, mais comme il ne s'est produit aucune fermentation sous l'action de *Mon. balcanica*, ce ne peut être de la glucose (qui est toujours attaquée par ce dernier champignon), ce doit donc être de la lévulose.

Mon. krusei Cast.	+	Lévulose.
Mon. balcanica Cast. .	0	

Identification de la maltose.

a) Une solution stérile à 1 p. 100 dans de l'eau peptonée de la substance à identifier, et que l'on soupçonne être de la maltose, sera répartie dans deux tubes stérilisés, numérotés 1 et 2. On ensemencera *Mon. pinoyi* Cast. au tube n° 1 et *Mon. krusei* Cast. au tube n° 2. Si après un séjour de soixante-douze heures à l'étuve à 35° C., le tube n° 1 (*M. pinoyi*) contient du gaz et n° 2 (*M. krusei*) n'en contient pas, la substance est de la maltose. Ce résultat est expliqué par le fait que *Mon. pinoyi* Cast. fait fermenter avec production de gaz seulement les trois composés carbonés suivants : glucose, lévulose, maltose, alors que *Mon. krusei* n'en fait fermenter que deux : glucose et lévulose. La substance qui a fermenté sous l'action de *M. pinoyi* doit être soit de la glucose, de la lévulose ou de la maltose, mais comme elle n'a subi aucune fermentation sous l'action de *M. krusei*, ce ne peut être ni de la glucose, ni de la lévulose ; il ne reste donc qu'une possibilité : ce doit être de la maltose.



Mon. pinoyi Cast.	+	Maltose.
Mon. krusei Cast.	0	

b) Même technique, mais on ensemencera le tube n° 1 avec *Mon. tropicalis* Cast. et le tube n° 2 avec *Mon. macedoniensis* Cast. Si, après soixante-douze heures d'incubation à 35° C, le tube n° 1 contient du gaz, et le tube n° 2 n'en contient pas, nous pouvons conclure que nous sommes en présence de maltose. Ceci se comprend facilement si on se rappelle les caractères fermentatifs des deux champignons. La *Mon. tropicalis* fait fermenter (avec production de gaz) seulement les hydrates de carbone suivants :

Glucose,
Lévulose,
Maltose,
Galactose,
Saccharose.

La *Mon. macedoniensis* fait fermenter (avec production de gaz) seulement les hydrates de carbone suivants :

Glucose,
Lévulose,
Galactose,
Saccharose,
Inuline.

Notre substance a été fermentée (avec production de gaz) par la *Mon. tropicalis*; elle doit donc être soit de la glucose, soit de la lévulose, soit de la maltose, soit de la galactose, soit de la saccharose; mais, si elle était de la glucose, de la lévulose, de la galactose, de la saccharose, elle aurait été fermentée (avec gaz) aussi par la *Mon. macedoniensis*; il ne reste qu'une possibilité : ce doit être de la maltose.

Mon. tropicalis Cast.	+	Maltose.
Mon. macedoniensis Cast.	0	

Identification de la galactose.

a) Même technique que celle qui précède, seulement on ensemencera *Mon. metalondinensis* Cast. au tube n° 1 et *Mon. pinoyi* Cast. au tube n° 2. Si après soixante-douze heures d'incubation à 35°, le tube n° 1 (*Mon. metalondinensis*) contient

du gaz, alors qu'il n'y en a point trace dans le n° 2 (*Mon. pinoyi*) nous pouvons conclure que nous sommes en présence de galactose. Pourquoi cette conclusion? Rappelons-nous que *Mon. metalondinensis* ne fait fermenter que les quatre composés carbonés suivants : glucose, lévulose, maltose et galactose tandis que *Mon. pinoyi* n'a d'action que sur la glucose, la lévulose et la maltose. Notre substance ayant fermenté sous l'influence de *Mon. metalondinensis*, il se présente donc quatre hypothèses : il s'agit de glucose, de lévulose, de maltose ou de galactose; mais puisqu'elle n'a subi aucune fermentation sous l'action de *Mon. pinoyi* (ce dernier champignon fait fermenter la glucose, la lévulose et la maltose), il ne peut être question ni de glucose, ni de lévulose, ni de maltose, et il ne reste qu'une possibilité : ce doit être de la galactose.

Mon. metalondinensis Cast.	+	Galactose.
Mon. pinoyi Cast.	0	

b) Même technique, mais le tube n° 1 est ensemencé avec la *Mon. tropicalis* Cast. et le tube n° 2, avec la *Mon. bronchialis* Cast. Si, après trois jours dans l'incubateur à 35°, le tube n° 1 contient du gaz, tandis que le tube n° 2 ne contient pas de gaz, nous pouvons conclure que nous sommes en présence de galactose. Il faut se rappeler que *Mon. tropicalis* fait fermenter (avec gaz) seulement les hydrates de carbone suivants :

Glucose,
Lévulose,
Maltose,
Galactose,
Saccharose.

La *Mon. bronchialis* fait fermenter (avec gaz) seulement les hydrates de carbone suivants :

Glucose,
Lévulose,
Maltose,
Saccharose.

Notre substance ayant fermenté sous l'influence de *Mon. tropicalis*, il y a cinq possibilités : il s'agit de glucose, ou lévulose, ou maltose, ou galactose, ou saccharose; mais s'il

s'agissait de glucose, de lévulose, de maltose, de saccharose, il y aurait fermentation aussi sous l'influence de *Mon. bronchialis*; il ne reste qu'une possibilité, il s'agit de galactose.

Mon. tropicalis Cast.	+	Galactose.
Mon. bronchialis Cast.	0	

c) Même technique, mais la solution est distribuée en trois tubes : le tube n° 1 est ensemencé avec *Mon. metalondinensis* Cast., le tube n° 2 avec *Mon. krusei* Cast., et le tube n° 3 avec *Mon. macedoniensis* Cast. Si, après trois jours dans l'étuve à 35°, il y a du gaz dans les tubes 1 et 3 et pas de gaz dans le n° 2, on peut venir à la conclusion que nous sommes en présence de galactose. Il faut se rappeler que *Mon. metalondinensis* fait fermenter (avec gaz) seulement :

Glucose,
Lévulose,
Maltose,
Galactose.

Mon. krusei fait fermenter (avec gaz) seulement :

Glucose,
Lévulose.

Mon. macedoniensis fait fermenter (avec gaz) seulement :

Glucose,
Lévulose,
Galactose,
Saccharose,
Inuline.

Notre substance a été fermentée par la *Mon. metalondinensis*; elle doit donc être de la glucose, ou de la lévulose, ou de la maltose, ou de la galactose; mais elle n'a pas été fermentée par la *Mon. krusei*, donc elle ne peut pas être de la glucose ou de la lévulose; elle peut être seulement de la maltose ou de la galactose; mais elle a été fermentée par la *Mon. macedoniensis*, elle ne peut pas donc être de la maltose : il reste seulement une possibilité : elle doit être de la galactose.

Mon. metalondinensis Cast.	+	Galactose.
Mon. krusei Cast.	0	
Mon. macedoniensis Cast.	+	

Identification de la lactose.

a) Même technique, mais le tube n° 1 est ensemencé avec *Mon. pseudotropicalis* et le tube n° 2 avec *Mon. macedoniensis*. Si, après trois jours dans l'étuve à 35°, il y a du gaz dans le tube n° 1 et pas de gaz dans le tube n° 2, nous pouvons conclure que notre substance est de la lactose. Il est suffisant, en effet, de se rappeler les caractères fermentatifs de ces deux champignons : la *Mon. pseudotropicalis* fait fermenter (avec gaz) seulement les hydrate de carbones suivants :

Glucose,
Lévulose,
Galactose,
Saccharose,
Lactose.

La *Mon. macedoniensis* fait fermenter (avec gaz) seulement hydrates de carbone suivants :

Glucose,
Lévulose,
Galactose,
Saccharose,
Inuline.

Notre substance a été fermentée par la *Mon. pseudotropicalis* : elle doit être donc ou de la glucose, ou de la lévulose, ou de la galactose, ou de la saccharose, ou de la lactose ; mais si elle était un des trois premiers hydrates de carbone, elle aurait été fermentée avec gaz aussi par la *Mon. macedoniensis;* il reste seulement une possibilité : la substance doit être de la lactose.

Mon. pseudotropicalis Cast.	+	Lactose.
Mon. macedoniensis Cast.	0	

b) On suivra la même technique dont on s'est servi pour l'identification des hydrates de carbone mentionnés plus haut, mais au lieu d'employer des hyphomycètes, on peut avoir recours à des bactéries. De la substance que l'on désire identifier, on fera une solution à 1 p. 100 à l'eau peptonée stérile,

que l'on répartira dans deux tubes n° 1 et n° 2. On ensemencera *B. pseudoasiaticus* Cast. au tube n° 1 et *B. pseudocoli* Cast. au tube n° 2. Si, après quarante-huit heures de séjour à l'étuve à 37°, le tube n° 1 ne contient pas de gaz, tandis que le tube n° 3 en contient, la substance en question est de la lactose, parce que *B. pseudoasiaticus* et *B. pseudocoli* sont absolument identiques en ce qui concerne leurs propriétés fermentatives, sauf vis-à-vis de la lactose; cette substance n'est pas attaquée par *B. pseudoasiaticus*, tandis qu'elle subit une fermentation avec production de gaz sous l'action du *B. pseudocoli*.

En pratique, si l'on sait par avance que la substance à déterminer réduit le réactif de Fehling, deux bacilles communément rencontrés dans les laboratoires pourront être utilisés : c'est le *B. paratyphosus B* et le *B. coli*. Quand une substance réductrice du réactif de Fehling ne subit aucune fermentation sous l'action de *B. paratyphosus B*, alors qu'elle en subit une sous l'action de *B. coli*, c'est qu'il s'agit de lactose. Pourquoi ? Parce que les deux germes précités, pour ce qui est de leur pouvoir fermentatif (avec production de gaz) sur les substances réduisant la liqueur de Fehling ne diffèrent que dans leur action sur la lactose ; *B. paratyphosus B* — ainsi que nous le savons — ne la fait pas fermenter, mais *B. coli* la fait fermenter avec dégagement de gaz. *B. paratyphosus B* et *B. coli* ne diffèrent dans leur action fermentative sur les sucres et hydrates de carbone en général, alcools, etc., qu'à l'égard de la raffinose, de la salicine, de l'inosite et de la glycérine. Une substance qui n'est pas fermentée par *B. paratyphosus B* et qui l'est par *B. coli* peut donc être de la lactose, de la raffinose, de la salicine ou de la glycérine, mais, si cette même substance réduit le réactif de Fehling, ce doit être certainement de la lactose.

Identification de la saccharose.

On fera une solution à 1 p. 100 de la substance présumée être de la saccharose, dans de l'eau peptonée, et une certaine quantité de cette solution sera distribuée dans deux tubes n° 1 et n° 2. On inoculera *Mon. tropicalis* Cast. au tube n° 1 et *Mon. metalondinensis* Cast. au n° 2. Si après soixante-douze heures à 35° il y a dégagement de gaz dans le tube n° 1 et pas de gaz

dans le tube n° 2, la substance traitée est de la saccharose. Ce résultat se comprend aisément en se souvenant que *Mon. tropicalis* Cast. ne fait fermenter que les composés carbonés suivants :

Glucose,
Lévulose,
Maltose,
Galactose,
Saccharose.

et que *Mon. metalondinensis* Cast. n'agit que sur les quatre composés carbonés suivants :

Glucose,
Lévulose,
Maltose,
Galactose.

Par conséquent, lorsqu'une substance est fermentée (avec production de gaz) sous l'action de *Mon. tropicalis*, nous sommes en présence de cinq hypothèses : nous avons affaire soit à de la glucose, de la lévulose, de la maltose, de la galactose ou de la saccharose; mais si cette même substance ne subit aucune fermentation sous l'influence de *Mon. metalondinensis*, il ne peut alors être question ni de glucose, ni de lévulose, ni de maltose, ni de galactose, et la substance doit être de la saccharose.

Une formule chimico-mycologique, utile dans la pratique, peut être donnée comme complément à la méthode purement mycologique décrite ci-dessus :

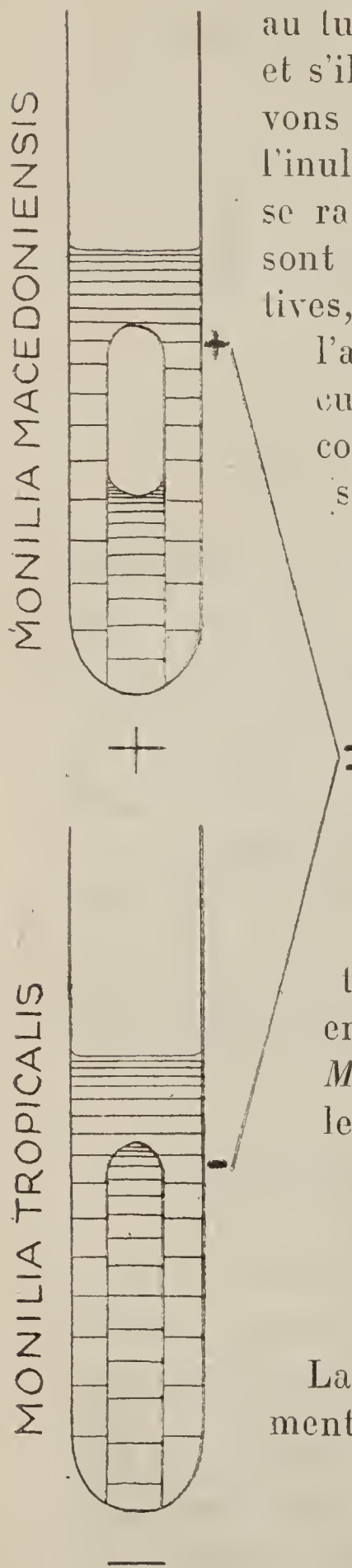
Fehling.	0	Saccharose.
Mon. tropicalis Cast.	+	

Étant donné que *Mon. tropicalis* Cast. provoque la fermentation avec dégagement de gaz de la glucose, lévulose, maltose et saccharose et d'aucune autre substance, la substance que nous voulons identifier doit être un de ces quatre sucres, mais comme la réaction de Fehling est négative, les trois premiers sucres ne peuvent être mis en cause, car tous trois réduisent le réactif de Fehling; il ne reste alors qu'une possibilité : la substance doit être de la saccharose.

Identification de l'inuline.

a) Même technique qu'à l'égard de la saccharose; toutefois, on ensemencera *Mon. macedoniensis* au tube n° 1 et *Mon. rhoi* au tube n° 2. S'il se forme du gaz dans le tube n° 1 et s'il n'y a pas de gaz dans le tube n° 2, nous pouvons venir à la conclusion que la substance est de l'inuline. Ce résultat s'explique facilement si l'on se rappelle que *Mon. macedoniensis* et *Mon. rhoi* sont identiques dans leurs réactions fermentatives, sauf à l'égard de l'inuline qui fermente sous l'action de *Mon. macedoniensis* et ne subit aucune modification sous celle de *Mon. rhoi*. Par conséquent, si une substance fermente avec gaz sous l'action de *Mon. macedoniensis* et, au contraire, ne fermente pas sous l'action de *Mon. rhoi*, c'est qu'il s'agit d'inuline.

Mon. macedoniensis Cast. .	+	Inuline.
Mon. rhoi Cast.	0	



b) Même technique, mais le tube n° 1 est ensemencé avec *Mon. macedoniensis* et le tube n° 2 avec *Mon. tropicalis*. Si après trois jours à l'étuve à 35°, il y a du gaz dans le tube n° 1 et pas de gaz dans le tube n° 2, on peut conclure que nous sommes en présence de l'inuline. Il faut se rappeler que *Mon. macedoniensis* fait fermenter avec gaz seulement les hydrates de carbone suivants :

Glucose,
Lévulose,
Galactose,
Saccharose,
Inuline.

La *Mon. tropicalis* fait fermenter avec gaz seulement les hydrates de carbone suivants :

Glucose,
Lévulose,
Maltose,
Galactose,
Saccharose.

Notre substance a été fermentée par la *Mon. macedoniensis* : elle doit être donc de la glucose, de la lévulose, de la galactose, de la saccharose, de l'inuline. Mais si c'était de la glucose, de la lévulose, de la galactose ou de la saccharose, elle aurait été fermentée avec gaz aussi par la *Mon. tropicalis*; il reste une seule possibilité : la substance est de l'inuline.

Présence de plusieurs substances fermentescibles.

Si l'on soupçonne la présence de plus d'un sucre ou autre composé carboné fermentescible, on peut, dans une certaine mesure, s'assurer du fait par l'application de notre méthode qui permettra également d'identifier les diverses substances fermentescibles. Supposons qu'un liquide ayant subi une fermentation gazeuse sous l'action de *Mon. balcanica* Cast. soit encore fermentescible avec dégagement de gaz sous l'influence de *Mon. krusei* Cast., on devra en conclure qu'indépendamment de la glucose, ledit liquide contient aussi de la lévulose ; il va sans dire qu'on devra utiliser des espèces de *Mon. balcanica* et *Mon. krusei* possédant approximativement le même pouvoir de fermentation sur la glucose. Si, à complet épuisement de ces deux substances sous l'action de *Mon. balcanica* Cast. et *Mon. krusei* Cast., ce liquide est encore fermentescible avec dégagement de gaz au moyen de *Mon. pinoyi* Cast., on a tout lieu de croire qu'en dehors de la glucose et de la lévulose il y a de la maltose. Ce résultat s'explique facilement étant donné que *Mon. balcanica* Cast. n'attaque que la glucose, *Mon. krusei* Cast. n'attaque que la glucose et la lévulose, et *Mon. pinoyi* Cast. n'attaque que la glucose, la lévulose et la maltose.

Emploi de la méthode mycologique dans l'analyse d'urine.

Nous avons procédé à une série d'expériences en ajoutant divers sucres et autres hydrates de carbone aux spécimens d'urine, et en examinant un certain nombre d'urines pathologiques. Nous sommes arrivés à la conclusion que notre méthode peut être employée avec avantage dans l'analyse d'urine, notamment pour la recherche de la maltose, de la galactose, de

la lactose et des pentoses. Il importe au plus haut degré que l'urine soit aseptique ; s'il n'est pas possible de la recueillir aseptiquement, elle devra être stérilisée aussitôt que possible après sa répartition dans les tubes, à l'étuve de Koch, où elle devra séjourner deux fois pendant trente minutes, à quelques heures d'intervalle. On ne mettra jamais les spécimens d'urine

TABLEAU I.

Identification des substances réductrices de la liqueur de Fehling.

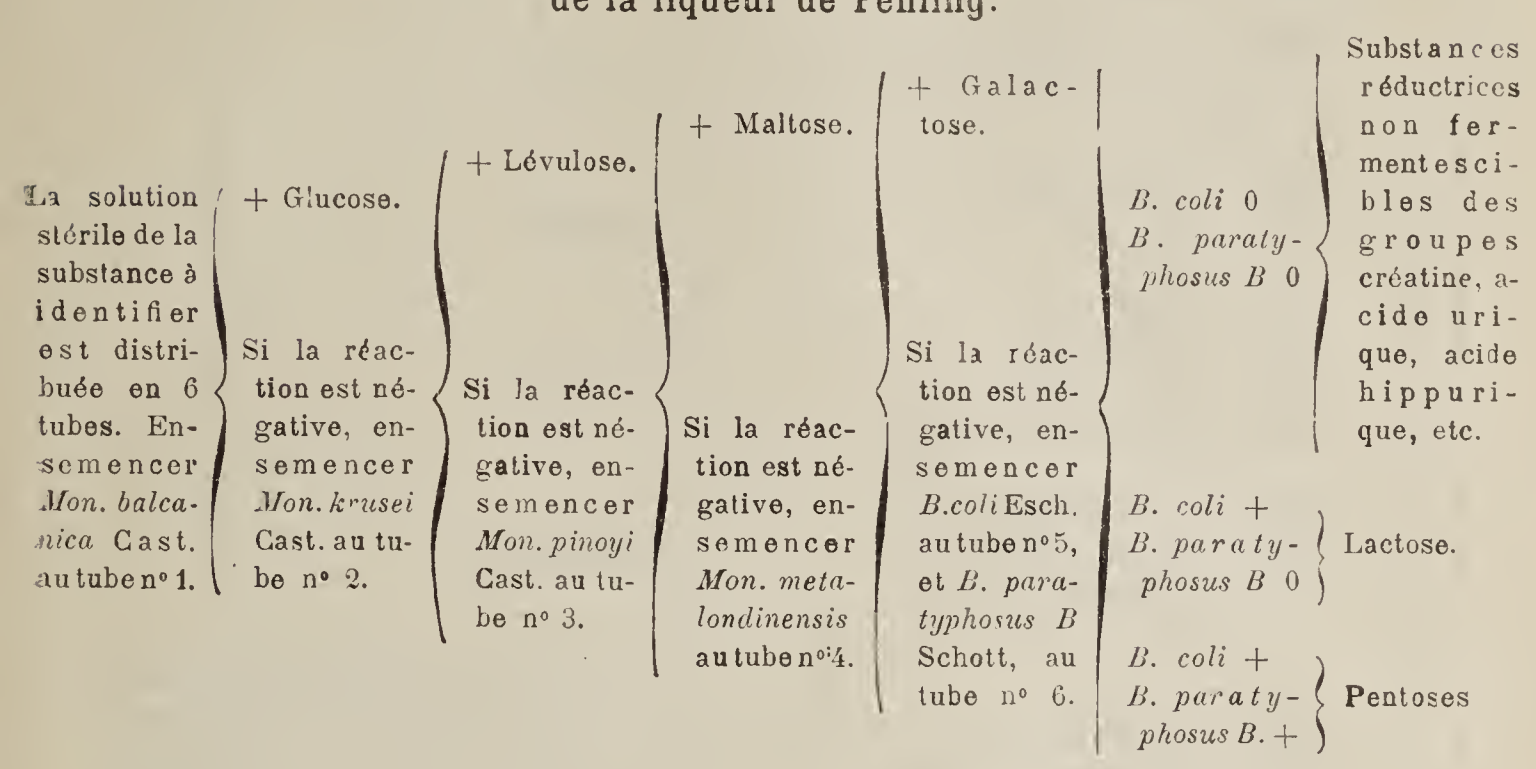
M. BALCANICA CAST.	M. KRUSEI CAST.	M. PINOYI CAST.	M. METALONDINENSIS CAST.	M. PARATYPHOSUS B. SCHOTT.	B. COLI ESCHERICH	SUBSTANCE RÉDUCTRICE
+	+	+	+	+	+	Glucose.
0	+	+	+	+	+	Lévulose.
0	0	+	+	+	+	Maltose.
0	0	0	+	+	+	Galactose.
0	0	0	0	+	+	Pentoses.
0	0	0	0	0	+	Lactose.
0	0	0	0	0	0	Substances réductrices non fermentescibles des groupes créatine, acide hippurique, acide urique, etc.

+ = Production de gaz ; il n'est tenu aucun compte d'une simple fermentation acide.
0 = Pas de gaz.
On fait une solution à 1 p. 100 de la substance réductrice dans l'eau peptonée. On aura soin de choisir des variétés des divers micro-organismes à réactions biochimiques permanentes produisant la fermentation avec abondant dégagement de gaz.

à l'autoclave fermé, cette façon de procéder pouvant altérer la nature des sucres présents. Une certaine quantité d'urine sera répartie dans six tubes stérilisés, pourvus chacun d'un tube à fermentation. Il est utile d'ajouter à cette urine le tiers ou une quantité égale d'eau peptonée pour permettre aux hyphomycètes de croître abondamment. Puis, on ensemencera les hyphomycètes suivants de ces six tubes : *Mon. balcanica* au premier ; *Mon. krusei* au second ; *Mon. pinoyi* au troisième ; *Mon. metalondinensis* au quatrième ; *B. paratyphosus B* au cinquième ; et

B. coli au sixième et dernier tube. On se rendra compte instantanément du jeu de notre méthode en se reportant au tableau et à la légende ci-dessous :

Clé servant à l'identification de certaines substances réductrices de la liqueur de Fehling.



ADDENDUM

Malheureusement, un accident survenu il y a quelques mois — l'étuve à 20° dans laquelle on tenait la collection de monilias ayant pris feu — détruisit un grand nombre de variétés importantes parmi lesquelles *Mon. balcanica* Cast. qui est spécifique à l'égard de la glucose. A l'heure actuelle, nous ne disposons que des monilias suivantes : *Mon. krusei* Cast. (fait fermenter avec production de gaz la glucose et la lévulose) ; *Mon. tropicalis* Cast. (fait fermenter avec production de gaz la glucose, la lévulose, la maltose, la galactose et la saccharose) ; *Mon. macedoniensis* Cast. (fait fermenter avec production de gaz la glucose, la lévulose, la galactose, la saccharose et l'inuline).

On pourra néanmoins procéder à la recherche et à l'identification de plusieurs sucres et autres composés carbonés avec les espèces que nous venons de nommer et en conjonction avec *B. paratyphosus B, B. coli communis* et *communior*, et *B. asiaticus*, ainsi que le démontrent les formules suivantes :

Mon. krusei Cast.	+	Glucose ou lévulose.
Mon. macedoniensis Cast.	0	Maltose.
Mon. tropicalis Cast.	+	
Mon. macedoniensis Cast.	+	Inuline.
Mon. tropicalis Cast.	0	
Mon. macedoniensis Cast.	+	Inuline.
B. coli communior (pseudocoli neapolitanus)	0	
Mon. macedoniensis.	+	Inuline.
B. asiaticus.	0	
Mon. krusei Cast.	0	Galactose.
Mon. macedoniensis Cast.	+	
Mon. tropicalis Cast..	+	
B. paratyphosus B Schott	+	
Mon. macedoniensis Cast.	+	Saccharose.
Mon. tropicalis Cast..	+	
B. paratyphosus B Schott.	0	
Mon. tropicalis Cast.	0	Lactose (en toute probabilité; il se pourrait que ce soit de la raffinose ou de la glycérine; faire la réaction de Fehling; si le résultat est positif il s'agit de lactose).
B. paratyphosus B. Schott. . . .	0	
B. coli Esch.	+	
Mon. tropicalis Cast..	0	Pentose (si la réaction de Fehling est positive).
B. paratyphosus B. Schott. . . .	+	
B. coli.	+	

Pour ce qui est des analyses d'urine, nous conseillons de se servir, dans la pratique courante, d'un jeu de cinq tubes, auxquels on ensemencera respectivement *M. krusei*, *M. macedoniensis*, *M. tropicalis*, *B. paratyphosus B* et *B. coli* (variolé *communior*, *pseudocoli*). On pourra classer les résultats de la façon suivante :

Mon. krusei Cast.	+	Glucose ou lévulose.
Mon. macedoniensis Cast.	+	
Mon. tropicalis Cast.	+	
B. paratyphosus B Schott.	+	
B. pseudocoli Cast	+	
Mon. krusei Cast.	0	Maltose.
Mon. macedoniensis Cast.	0	
Mon. tropicalis Cast.	+	
B. paratyphosus B Schott	+	
B. pseudocoli Cast..	+	

TABLEAU II.

Action fermentative sur les sucres, etc., par les champignons et bactéries employés dans notre méthode.

	GLUCOSE	LÉVULOSE	MALTOSE	GALACTOSE	SACCHAROSE	LACTOSE	MANNITE	DULCITE	DEXTRINE	RAFFINOSE	ARABINOSE	ADONITE	INULINE	SORBITE	AMIDON	GLYCÉRINE	INOSITE	SALICINE	AMYGDALINE	ISODULCITE	ERYTHRITE
M. balcanica Cast.	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M. krusei Cast.	G	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M. pinoyi Cast.	G	G	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M. metalondinensis Cast. . .	G	G	G	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M. tropicalis Cast.	G	G	G	G	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M. rhoi Cast.	G	G	0	G	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M. macedoniensis Cast. . . .	G	G	0	G	G	0	0	0	0	0	0	0	G	0	0	0	0	0	0	0	0
B. coli Escherich	G	G	G	G	0	G	G	G	G	G	G	0	0	G	0	G	0	G	0	G	0
B. pseudocoli Cast.	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	0	0	G	0	G	0	G	0	G	0
B. paratyphosus B. var. A.	G	G	G	G	0	0	G	G	G	0	G	0	0	G	0	0	G	0	0	G	0
B. paratyphosus A. Schott	G	G	G	G	0	0	G	G	G	0	G	0	0	G	0	0	0	0	0	G	0
B. asiaticus Cast.	G	G	G	G	G	0	G	0	G	G	G	0	0	G	0	G	0	0	0	G	0
B. pseudo-asiaticus Cast. . .	G	G	G	G	G	0	G	G	G	G	G	0	0	G	0	G	0	G	0	G	0

G = Gaz ; 0 = Résultat négatif (pas de gaz). Il n'est tenu aucun compte d'une simple fermentation acide.

Mon. krusei Cast.	0	Galactose
Mon. macedoniensis Cast.	+	
Mon. tropicalis Cast.	+	
B. paratyphosus B Schott. . . .	+	
B. pseudocoli Cast.	+	
Mon. krusei Cast.	0	Lactose (selon toute probabilité, mais il se pourrait que ce soit de la raffinose ou de la glycérine ; faire la réaction de Fehling, si le résultat est positif, il s'agit de lactose).
Mon. macedoniensis Cast.	0	
Mon. tropicalis Cast.	0	
B. paratyphosus B Schott. . . .	0	
B. pseudocoli Cast..	+	
Mon. krusei Cast.	0	Pentose (si toutefois la réaction de Fehling est positive).
Mon. macedoniensis Cast.	0	
Mon. tropicalis Cast.	0	
Mon. paratyphosus B Schott. . .	+	
B. pseudocoli Cast.	+	
Mon. krusei Cast.	0	Saccharose.
Mon. macedoniensis Cast.	+	
Mon. tropicalis Cast.	+	
B. paratyphosus B Schott . . .	0	
B. pseudocoli Cast.	+	
Mon. krusei Cast.	0	Inuline.
Mon. macedoniensis Cast.	+	
Mon. tropicalis Cast.	0	
B. paratyphosus B Schott. . . .	0	
B. pseudocoli Cast.	0	

En conclusion, nous croyons que quand notre méthode sera plus généralement connue, on la trouvera peut-être de quelque utilité dans la recherche de certains sucres et hydrates de carbone dont l'identification est si longue et si laborieuse quand elle est entreprise au moyen de méthodes purement chimiques. Nous serons heureux de fournir les cultures aux travailleurs qui s'intéressent à ce sujet.

L'INFECTION CHARBONNEUSE ET L'IMMUNITÉ ANTICHARBONNEUSE CHEZ LES LAPINS ET LES COBAYES

par L. BALTEANO.

(Travail du laboratoire de M. le professeur Borrel, Strasbourg.)

Le pouvoir pathogène de la bactéridie charbonneuse varie beaucoup suivant l'espèce animale : extrêmement accusé chez la souris et le cobaye, il est nul chez les oiseaux et les animaux à sang froid.

Quoique les lapins et les cobayes soient excessivement sensibles à l'infection charbonneuse en injection, ils se montrent, en revanche, réfractaires à l'ingestion des bactéridies ou des spores. D'après Uffenheimer (1), les germes qui réussissent à franchir la barrière stomacale sont vite éliminés et ne peuvent pas pénétrer dans la paroi intestinale.

Quant à l'inoculation par inhalation, les résultats des expériences ne sont pas concordants. Les quelques cas positifs que Buchner (2) a obtenus, en soumettant les cobayes et les souris à l'inhalation de spores et de bactéridies desséchées et pulvérisées, ainsi que ceux de Wyssokowitsch (3), ayant introduit avec succès des cultures charbonneuses dans la trachée, sont en contradiction avec les résultats négatifs de Morse (4) et Hildebrandt (5).

Même en ce qui concerne l'infection par injections, les opinions sont partagées.

Nœtzel (6) et van Leent (7) ont affirmé, contrairement à

(1) Uffenheimer. *Archiv f. Hygiene*, **55**, 1906.
(2) Buchner. *Münch. med. Woch.*, 1887.
(3) Wyssokowitsch. *Fortschr. der Medizin*, 1889.
(4) Morse. *Inaug. Diss.*, Berlin, 1881.
(5) Hildebrandt. *Beiträge z. Pathol. Anat. u. Physiol.*, von Ziegler et Nauwerck.
(6) Noetzel. *Archiv f. klin. Chir.*, **57**, 1898.
(7) Von Leent. *Centr. f. Bakt.*, **28**, 1900.

Fodor (1), que les cobayes et les lapins sont moins sensibles aux injections directes dans le sang et dans le péritoine que dans le tissu sous-cutané. Roger et Garnier (2) ont montré qu'on peut inoculer aux lapins directement dans la veine porte ou dans le parenchyme splénique du virus charbonneux sans leur causer aucun préjudice.

Mais ce sont les expériences de Besredka (3) qui ont mis au clair la question de l'infection et de l'immunisation charbonneuse chez les animaux de laboratoire. Il a montré que, contrairement à l'opinion générale, les cobayes et les lapins sont, en réalité, réfractaires à l'infection par toutes les voies, sauf par la peau. De ses recherches il ressort que, si l'on prend soin de respecter la peau, on peut inoculer impunément du deuxième vaccin et même du virus dans le péritoine ou ailleurs, sans provoquer la mort.

Notons aussi que les cas positifs d'infection charbonneuse obtenus par la voie conjonctivale, décrits par Rœmer (4) et Meyer (5), sont en désaccord avec les expériences de Braunschweig (6) et celles toutes récentes de Marguerite Aïtoff (7).

Nous avons repris les expériences de Besredka, pour voir si c'est effectivement la peau qui est, chez les cobayes et les lapins, le seul organe sensible à l'infection charbonneuse.

I. — De la réceptivité à l'infection charbonneuse.

Nos expériences ont porté sur des lapins et des cobayes. Toutes les opérations décrites ci-dessous ont été conduites de façon à éviter la contamination de la peau. Nos animaux ont reçu des injections de bactéridies dans les veines, le péritoine, la plèvre, sous la peau et dans la peau.

Trois lapins qui pesaient 1 kilogr. 850, 1 kilogr. 900 et 2 kilogr. 150, ont reçu *dans la veine marginale* de l'oreille 0 c. c. 5 d'une culture de charbon en

(1) Fodor. *Deut. med. Woch.*, 1886.
(2) Roger et Garnier. *Coc. R. S. Biol.*, 1905, 1er sem., p. 863.
(3) Besredka. Ces *Annales*, **35**, 1921, p. 421.
(4) Roemer. *Zeit. f. Hygiene*, **32**, 1889, p. 295.
(5) Meyer. *Münch. med. Woch.*, 1900, n° 51, p. 1169.
(6) Braunschweig. *Fortschritte d. Mediz.*, 1889, n° 24, p. 921.
(7) Marguerite Aitoff. Ces *Annales*, **36**, 1922, p. 567.

bouillon, âgée de vingt-quatre heures. Nous avons eu soin de léser le moins possible la peau, en cautérisant l'endroit de la piqûre.

A trois autres lapins, qui pesaient 1 kilogr. 840, 1 kilogr. 950 et 2 kilogr. 050, nous avons introduit *dans le péritoine*, par un petit orifice fait avec une pipette effilée, des tubes capillaires contenant 0 c. c. 3 environ d'une émulsion de charbon sur gélose (culture de vingt-quatre heures). Trois jours après, quand l'orifice était complètement cicatrisé, nous avons cassé les tubes capillaires.

Chez deux lapins pesant 2 kilogr. 050 et 2 kilogr. 120, nous avons pratiqué, *dans la cavité pleurale droite*, des injections avec 0 c. c. 5 de culture en bouillon de vingt-quatre heures. Nous avons lavé ensuite l'aiguille avec 0 c. c. 5 d'eau physiologique, et nous l'avons flambée à la veilleuse d'un bec Bunsen, pendant qu'on la tirait lentement de la plaie ; l'orifice extérieur de cette dernière était ensuite bien cautérisé.

Tous les lapins de trois groupes ont survécu, sauf un, chez lequel nous avons été forcé de piquer trois fois la veine. Il est mort, trois jours après, d'infection charbonneuse.

Un lapin du troisième groupe a succombé à une pneumococcie.

Chez trois lapins, nous avons introduit *sous la peau* (en pratiquant préalablement une poche sous-cutanée, au moyen d'une pipette effilée et en décollant le derme), des tubes capillaires, qui contenaient 0 c. c. 3 d'émulsion épaisse d'une culture sur gélose de vingt-quatre heures.

Le lendemain, l'orifice étant bien cicatrisé, nous avons cassé les tubes. Deux de ces lapins ont survécu. Le troisième, chez lequel nous avons intentionnellement lésé le derme, en cassant le tube, est mort après trois jours.

Deux lapins *témoins*, qui pesaient 1 kilogr. 750 et 1 kilogr. 860, ont été inoculés : l'un par badigeonnage de la peau, fraîchement rasée, avec un tampon trempé dans une culture en bouillon de vingt-quatre heures, et l'autre par une piqûre intradermique de 0 c. c. 1 de la même culture. Sur les frottis du sang, nous avons trouvé des bactéridies charbonneuses, vingt-quatre heures après l'inoculation. Ces lapins sont morts après quatre jours. L'examen des frottis des organes, ainsi que l'hémoculture faits aussitôt après la mort, ont donné des résultats positifs.

Nous avons répété ces mêmes expériences sur des cobayes. Chez ces animaux, l'inoculation directe *dans le sang* est difficile à pratiquer. Un cobaye qui pesait 435 grammes et qui a reçu directement dans le cœur 0 c. c. 5 d'une culture en bouillon, avec toutes les précautions nécessaires pour ne pas infecter la peau, a survécu.

Chez trois autres, qui pesaient 325, 425 et 335 grammes, nous avons introduit *dans le péritoine* des tubes capillaires renfermant une émulsion d'une culture sur gélose de vingt-quatre heures. Ces tubes ont été cassés après trois jours. Deux cobayes ont survécu. Le troisième est mort par accident.

Chez trois cobayes, qui pesaient 365, 390 et 385 grammes, nous avons introduit *sous la peau*, de la même manière que chez les lapins, des tubes capillaires contenant une émulsion de culture sur gélose de vingt-quatre heures. Le lendemain, quand l'orifice a été bien cicatrisé, nous avons cassé les tubes avec précaution. Ils ont survécu.

Deux cobayes *témoins* ont été inoculés : un par badigeonnage de la peau

fraîchement rasée et l'autre par une injection intradermique de 0 c. c. 1 de la même culture. Après dix heures, il apparut un œdème local qui augmenta les jours suivants; il se généralisa ensuite à la grande partie de l'abdomen. Les deux témoins sont morts après trois jours.

A l'autopsie, l'infection charbonneuse a été confirmée par les frottis des organes et par l'hémoculture.

Il résulte de l'ensemble de ces expériences que les lapins et les cobayes sont naturellement réfractaires à l'infection charbonneuse et que seule la peau de ces animaux est sensible à la bactéridie.

II. — L'immunisation du cobaye contre le charbon.

Dans le charbon, plus que dans toute autre maladie infectieuse, le résultat de la vaccination dépend de l'espèce animale. Si la méthode pastorienne donne des résultats si favorables chez les grands animaux, elle reste sans succès lors de l'immunisation des petits animaux de laboratoire.

Déjà Koch (1) et ses collaborateurs, Gaffky et Löffler, sont arrivés, après de nombreuses expériences, à la conviction que par la méthode pastorienne on ne pouvait immuniser ni lapins, ni cobayes, ni souris.

Roux et Chamberland (2) ont réussi à vacciner des lapins en leur injectant d'abord dans les veines de grandes quantités de premier vaccin, puis deux-trois jours après, de deuxième vaccin sous la peau.

Marchoux (3) a pu immuniser des lapins au moyen des vaccins utilisés chez les moutons. Après trois-quatre injections, faites à huit-dix jours d'intervalle, il éprouvait les animaux avec quelques gouttes de sang charbonneux injectées sous la peau.

Or, chez les cobayes, le problème était plus difficile. En leur appliquant les procédés qui se sont montrés efficaces chez les lapins, on réussit, tout au plus, à rendre le co-

(1) Koch, Gaffky et Löffler. *Mitteil. a. d. Kais. Ges.-Amt.* 1, 1881 et 2, 1884.
(2) Roux et Chamberland. *C. R. Acad. des Sciences*, 96, 1882.
(3) Marchoux. Ces *Annales*, 1895, p. 785.

baye résistant vis-à-vis d'une dose mortelle du deuxième vaccin.

De Nittis (1) prétend avoir obtenu l'immunisation du cobaye en pratiquant des inoculations systématiques avec le premier et le deuxième vaccin, pendant deux-trois mois.

Marino (2), en utilisant la voie sous-cutanée, a obtenu des résultats négatifs. Ses cobayes restent sensibles non seulement vis-à-vis des souches virulentes étrangères, mais encore vis-à-vis de celle avec laquelle ils ont été préparés.

Or il résulte des recherches sur le mécanisme de l'infection charbonneuse, faites par Besredka (3), et confirmées par nos propres expériences (4) que c'est la peau seule qui est l'organe sensible à l'infection.

C'est donc à la peau que Besredka s'est adressé. Il a pu démontrer, en effet, que si, au lieu d'injecter les bactéridies dans le péritoine ou sous la peau, on en injecte *dans* la peau, l'immunisation anticharbonneuse devient facile et qu'en opérant ainsi on rend le cobaye et le lapin réfractaire à une dose énorme de virus virulent, inoculée en n'importe quel point de l'organisme.

Par contre, quand on introduit, à la faveur des précautions que l'on sait, des quantités considérables de virus dans le péritoine, celui-ci, aussitôt phagocyté et digéré, disparaît du corps sans y laisser aucune trace. La destruction des bactéridies est si rapide et si totale que rien d'elles ne parvient jusqu'à l'organe sensible, c'est-à-dire jusqu'à la peau. « La peau se trouvant hors d'atteinte du charbon, l'animal ignore tout de l'inoculation faite. Aussi demeure-t-il, après l'inoculation, aussi sensible au charbon qu'avant. Son immunité est nulle » (Besredka).

Nous nous sommes proposé de vacciner 6 cobayes, qui pesaient entre 350-415 grammes, par la voie cutanée proprement dite, c'est-à-dire, par friction de la peau.

Le 25 mars, nous avons badigeonné une petite portion de la peau abdominale, fraîchement rasée, avec un tampon de coton imbibé de premier

(1) De Nittis. Ces *Annales*, 1901.
(2) Marino. *C. R. Soc. Biol.*, 18 février 1912.
(3) Besredka. Ces *Annales*, **25**, 1921, p. 421.
(4) Balteano. *C. R. Soc. Biol.*, **87**, 1922, p. 655.

vaccin. Le lendemain, nous avons observé une réaction inflammatoire, limitée à la portion badigeonnée, suivie d'une exfoliation épidermique.

Après six-sept jours, la peau a repris son aspect normal.

Le 3 avril, nous avons badigeonné l'autre côté de la paroi abdominale avec le deuxième vaccin. La réaction inflammatoire, qui apparut le lendemain, fut plus accentuée que dans le cas précédent et se compliqua, chez trois cobayes, d'une ulcération superficielle ; celle-ci donna lieu à une escarre qui s'élimina après dix jours. Deux de nos cobayes sont morts de septicémie charbonneuse quatre jours après le badigeonnage.

Le 21 avril, les quatre cobayes restants sont badigeonnés avec un tampon imbibé d'une culture virulente, en bouillon, âgée de vingt-quatre heures.

On vit apparaître, à la suite de ce badigeonnage, une réaction inflammatoire de très courte durée, si bien que le 27 avril nous avons eu la possibilité de leur faire une injection sous-cutanée avec 1/10 de centimètre cube de virus en bouillon.

Dans la suite, nous avons inoculé à ces cobayes des doses croissantes de virus sous la peau, en différentes régions; elles ont été très bien supportées :

Le 7 mai	ils ont reçu	0 c.c. 2	de culture	en bouillon	de vingt-quatre heures.
16 mai	—	0 c.c. 5	—	—	—
25 mai	—	1 c.c.	—	—	—
4 juin	—	2 c.c.	—	—	—
13 juin	—	0 c.c. 5	de l'émulsion d'une culture sur gélose de vingt-quatre heures.		
21 juin	—	1 c.c.	de l'émulsion d'une culture sur gélose de vingt-quatre heures.		

Nous avons inoculé le même virus par différentes voies : intrapéritonéale, intramusculaire, intradermique, sans déterminer aucun symptôme morbide.

Nous avons éprouvé la résistance de nos cobayes envers trois souches de charbon virulentes, qui nous ont été obligeamment fournies par M. Staub, de l'Institut Pasteur. Nos cobayes vaccinés ont reçu, par voie cutanée, sous-cutanée, dans le péritoine et dans les muscles de la cuisse, 0 c.c. 5 de culture en bouillon de ces nouvelles souches, âgées de vingt-quatre heures. Aucun de nos cobayes n'a été malade, alors que les trois cobayes témoins, inoculés avec 0 c.c. 1 par voie sous-cutanée, sont morts en 3 jours de septicémie charbonneuse.

De toutes ces expériences, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° Chez les cobayes et les lapins, la peau est le seul organe sensible à l'infection charbonneuse;

2° En adoptant la voie cutanée proprement dite, c'est-à-dire en frictionnant la peau du cobaye, on peut lui conférer une immunité telle qu'il devient réfractaire :

a) au virus charbonneux, avec lequel il a été vacciné, quel que soit le point de l'inoculation du virus ;

b) ainsi qu'aux diverses autres souches de bactéridies virulentes.

Nos expériences confirment ainsi en tous points celles de Besredka.

(Institut d'Hygiène et de Bactériologie, Strasbourg.)

DEUX CAS DE RAGE CANINE OBSERVÉS A BRAZZAVILLE (A. E. F.)

par M. BLANCHARD et G. LEFROU.

La rage canine est d'observation assez courante en Afrique occidentale française où elle a été particulièrement étudiée par Cazalbou (1), Bouffard (2), Arlo (3), Commes, au Soudan; par Bouffard (4) au Dahomey; par Teppaz (5), Bourret (6), Heckenroth (7), Curasson (8) au Sénégal; enfin par Aldigé (9) en Guinée. Bouffard, Heckenroth et Arlo, en particulier, ont entrepris à son sujet des recherches expérimentales très approfondies qui ont abouti aux mêmes conclusions : le « chien fou », signalé dans les coins les plus reculés du Soudan avant toute introduction de chiens d'Europe, est bien un chien enragé; le virus, inoculable au lapin en série, ne paraît pas avoir tendance à se fixer; il ne semble pas transmissible à l'homme par morsure.

Ce dernier caractère, basé sur de nombreuses observations, est d'une extrême importance prophylactique, il est malheureusement incertain : c'est ainsi qu'en 1912, dans un village de Guinée isolé à 400 kilomètres de la côte, le Dr Cavasse a observé un cas typique de rage humaine sur un indigène mordu quarante et un jours auparavant par un chien errant.

La question s'est encore compliquée du fait de l'importation possible de la rage d'Europe au Sénégal et même au Soudan, en raison de la rapidité actuelle des moyens de communication entre la métropole et ces colonies; aussi n'a-t-on pu fixer

(1) Cazalbou. *Notes de Path. exot.*, p. 91.
(2) Bouffard. Ces *Annales*, sept. 1912.
(3) Arlo. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1921, p. 368.
(4) Bouffard. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1921, p. 6.
(5) Teppaz. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1910, p. 331.
(6) Bourret. *Archives Laboratoire A. O. F.*
(7) Heckenroth. Ces *Annales*, 1918, p. 389.
(8) Curasson. *Bull. Soc. médico-chirurg. Ouest Afr.*, 1920, n° 10.
(9) Aldigé. *Arch. du Sco. Vétér. A. O. F.*

exactement l'origine autochtone ou importée des 6 cas de rage humaine observés sur des indigènes en 1915-1916 à Fatick et Piregourey.

C'est dire qu'en présence de rage canine africaine, la plus grande prudence s'impose et cela d'autant plus que la lenteur des communications coloniales peut souvent rendre aléatoire l'efficacité du traitement préventif antirabique des individus mordus. Aussi, dès l'apparition du premier des cas qui font l'objet de cette note, M. le médecin principal Boyé, directeur du Service de Santé de l'A. E. F., a-t-il pris des mesures d'une extrême rigueur (1), pour anéantir d'emblée au Congo une affection qui n'a pas tardé, dans d'autres colonies, l'Indochine en particulier, à revêtir le caractère d'un véritable fléau.

Les « chiens fous » n'avaient jamais encore été signalés en Afrique équatoriale et la rage humaine y est inconnue. Il en est de même au Congo belge, d'après le renseignement qu'a bien voulu nous donner le Dr Van den Branden, directeur du laboratoire de Léopoldville. Les 2 cas de rage canine rapportés dans cette note paraissent donc être les premiers observés ici.

Premier cas.

Une chienne adulte, ayant mordu plusieurs indigènes, est amenée ligotée à l'Institut Pasteur, le 13 décembre 1921. Elle errait à une trentaine de kilomètres de Brazzaville. C'est un animal d'assez grande taille, ayant l'aspect d'un chien d'Europe. Il se précipite avec acharnement sur tous les objets qu'on lui présente et les mord avec furie. Mis en observation dans une cage, il fuit son récipient d'eau et refuse toute nourriture. Il aboie par instant avec un timbre anormal. Dans la nuit du 13 au 14, il arrive, à force de mordre, à rompre un barreau de sa cage et attaque avec violence la porte de l'écurie. L'impossibilité de contenir plus longtemps un animal aussi dangereux oblige à l'abattre par pendaison.

Les examens du sang direct et après centrifugation ne montrent ni trypanosome, ni filaire. Formule leucocytaire : polynucléose à 80 p. 1.000.

Autopsie. — Animal en bon état d'engraissement. L'estomac

(1) Arrêté du 30 décembre 1921. *Journ. of. de l'A. E. F.*, 1er janvier 1922.

contient des débris de bois provenant de sa cage. Aucune lésion viscérale macroscopique. La vessie ne contient pas d'urine. L'encéphale et la moelle, qui ne présentent ni hyperhémie, ni hémorragies, sont recueillis et placés dans la glycérine à la glacière.

Deuxième cas.

Chien adulte, vivant habituellement à Brazzaville, amené à l'Institut Pasteur le 14 février par le policier qu'il avait assez profondément mordu à la main droite après avoir roulé ou mordu quelques-uns de ses congénères. L'animal, tenu en laisse, paraît assez calme, sauf à la vue des autres chiens sur lesquels il se précipite avec violence. Il boite de la patte antérieure gauche qui est très tuméfiée; en outre il titube fortement du train postérieur.

Il se laisse facilement mettre en cage, se rétractant dans le fond et ne sortant de son attitude hargneuse que pour se précipiter, autant que le lui permet la parésie de son arrière-train, sur tous les objets qu'on lui présente. Il est très dyspnéique et aboie de temps à autre avec un timbre très éteint.

Le 15 février les signes parésiques se sont très accentués; pas de dysphagie, pas d'écoulement de bave; l'aphonie est complète et la dyspnée de plus en plus intense; il cherche toujours à mordre en se traînant avec sa patte antérieure droite qui est la seule mobile. Il meurt le 16.

Les examens du sang direct et après centrifugation ne montrent pas de parasites.

Autopsie. — Pas de lésions viscérales macroscopiques. L'estomac contient quelques débris d'os et de bois. L'urine n'a pu être recueillie en assez grande quantité pour que M. le pharmacien-major Kéruzoré, qui a bien voulu en faire l'analyse, puisse affirmer la glycosurie. Le bulbe et l'encéphale sont mis dans la glycérine à la glacière.

Recherches expérimentales.

Premier cas.

Premiers passages. — *a*) Inoculation sous-dure-mérienne de II gouttes d'émulsion dans l'eau, de bulbe conservé quarante-huit heures en glycérine à la glacière, à un lapin 1 qui meurt dix-huit jours après, ayant présenté les

signes suivants : inappétence, température toujours normale. Troubles de la station et de la marche surtout accusés dans le train postérieur.

b) Inoculation de la même émulsion dans la chambre antérieure de l'œil à un lapin 2 qui meurt avec les mêmes signes au vingt et unième jour.

c) Inoculation de la même émulsion dans les muscles de la cuisse ou de la nuque à trois cobayes I, II, III, qui meurent en vingt et un, vingt et un et vingt-six jours avec les symptômes suivants : l'animal est tapi dans sa cage, le poil hérissé, la tête appuyée sur le sol retombant lourdement dès qu'on la soulève ; les pattes sont allongées en avant et en arrière, la station debout est impossible ; poussé, il fait quelques pas en chancelant et retombe.

Seconds passages. — *a*) Avec le bulbe du lapin 1, inoculation sous-dure-mérienne à lapins 3 et 4 et intramusculaire-nuque à cobaye IV, qui meurent en dix-huit et vingt quatre heures de septicémie.

b) Avec le bulbe du lapin 2, inoculation sous-dure-mérienne à lapin 6 et intramusculaire-nuque à cobaye VI qui meurent en vingt et vingt-quatre jours avec les mêmes signes que les cobayes des premiers passages.

c) Avec le cerveau du cobaye III, inoculation sous-dure-mérienne à lapin 5 et intramusculaire-nuque à cobaye V qui meurent en dix-sept et vingt et un jours avec les mêmes signes.

Troisièmes passages. — *a*) Avec le bulbe du lapin 5, inoculation sous-dure-mérienne à lapin 7 qui meurt en dix-sept jours, mêmes signes.

b) Avec le bulbe du lapin 6, inoculation intramusculaire-nuque à cobaye VII qui meurt au quarante-huitième jour, sans troubles précurseurs, après avoir été considéré comme réfractaire à l'inoculation.

Quatrième passage. — *a*) Avec le bulbe du lapin 7, inoculation sous-dure-mérienne à lapin 10, mort au vingtième jour avec signes habituels.

Les passages sont suspendus faute d'animaux.

Deuxième cas.

Le manque d'animaux n'a permis que deux passages : le premier par inoculation intramusculaire-nuque de 1 cent. cube d'émulsion de bulbe du chien, après quarante-huit heures de glycérine, à cobaye VIII qui meurt après quinze jours d'incubation. Le second, par inoculation sous-dure-mérienne d'émulsion de bulbe du cobaye VIII à lapin 11 qui meurt au dix-huitième jour avec les signes habituels de troubles de la station et de la marche du train postérieur.

*
* *

L'ensemble de ces expériences a montré qu'aucun des animaux inoculés n'a été réfractaire au virus, exception faite pour le cobaye VII ; que *la durée de l'incubation de la maladie a été relativement constante et de marche régulière pour un virus africain* : quinze à vingt et un jours chez le lapin et vingt et un à vingt-six jours chez le cobaye. La température des lapins, prise matin et soir, a oscillé entre 39° et 41°, sans présenter de maximum pendant les journées précédant la mort ; celle-ci survient généralement de façon très brusque, n'étant accom-

pagnée que peu d'heures auparavant par les troubles de la station et de la marche du train postérieur.

Nous tenons à insister sur ces troubles de la motilité qui ne sont pas des parésies ou paralysies véritables et qui ont peut-être été souvent décrits sous ces termes dans des comptes rendus d'expériences. En effet, quand on examine le lapin, qui en est atteint, dans sa cage ou même couché à plat ventre sur une table, on voit les pattes postérieures allongées en arrière, pendantes, remorquées inertes par le train antérieur et paraissant bien paralysées, mais si on renverse l'animal sur le dos on constate qu'il peut encore remuer ces pattes pour reprendre sa position première.

Essai comparatif avec le virus fixe de Paris.

L'encéphale d'un lapin tué par le virus fixe de l'Institut Pasteur de Paris a été remis à l'un de nous par M. J. Viala le 12 janvier 1921. Conservé en glycérine, à la glacière, pendant le trajet La Pallice-Matadi et, faute de glace, à la température ambiante (32°) pendant les deux journées de chemin de fer de Matadi à Brazzaville, ce virus (émulsion de bulbe) a été inoculé sous la dure-mère de deux lapins 8 et 9 d'âge et de poids sensiblement égaux.

Puis, le lapin 8 étant gardé comme témoin, le lapin 9 a reçu huit injections sous-cutanées, à raison d'une par jour, d'une émulsion en eau physiologique de 1 centimètre de moelle du lapin 7, tué en dix-sept jours par le virus Brazzaville (premier chien). Cette moelle avait été préparée, pour ce traitement préventif, suivant la méthode économique Roux-Calmette : atténuation de la virulence par dessiccation dans un flacon à potasse, en chambre noire; section quotidienne d'un centimètre aussitôt placé en glycérine à la glacière, de façon à fixer la virulence correspondante au jour de dessiccation. Les deux premières injections furent faites au lapin 9 avec des tronçons de moelle de quatre jours; les deux suivantes avec des moelles de trois jours; les quatre dernières avec des moelles d'un jour.

Le lapin 8 témoin mourut assez brusquement au neuvième jour avec dyspnée et troubles moteurs du train postérieur qui se manifestèrent cinq à six heures avant la mort. Un lapin II, inoculé sous la dure-mère avec le bulbe de ce lapin, mourut avec les mêmes signes après une incubation de quinze jours; la symptomatologie atypique de la maladie a pu être due à l'atténuation de la virulence du virus-fixe par le voyage Paris-Brazzaville?

Quoi qu'il en soit, le lapin 9 soumis au traitement préventif par le virus-Brazzaville ne présenta aucun trouble pendant quarante-quatre jours; il était considéré comme préservé et guéri lorsqu'il mourut brusquement au quarante-cinquième jour, sans autre signe qu'une élévation de température à 42°3. Le manque d'animaux a empêché de faire un passage pour vérifier s'il s'est agi ou non de rage. Mais sa mort serait-elle due à cette maladie, que l'évolution n'en aurait pas moins été retardée de trente-cinq jours sur le témoin.

Pareille expérience d'immunité croisée porte sur trop peu

d'animaux et renferme trop d'inconnues (animaux normalement résistants au virus africain) pour avoir d'autre valeur que celle d'un indice. Nous avons cependant tenu à la rapporter pour la joindre à celle très concluante que Curasson a faite à Dakar en immunisant préventivement un mouton avec le virus d'un chien de Rufisque contre le virus fixe de l'Institut de Biologie (1).

Observation des indigènes mordus.

Trois indigènes ont été mordus par le premier chien, l'un le 10 décembre 1921 à la lèvre supérieure et au bras, les autres le 13 décembre à la jambe droite et au cou-de-pied droit. Toutes ces blessures étaient pénétrantes, reçues sans interposition vestimentaire et elles n'ont pu être pansées, surtout celle du 10 décembre, que très tardivement. Cependant aucun des mordus observés pendant trois mois n'a contracté la maladie.

Le second chien n'a mordu qu'un individu, le policier qui l'a capturé le 14 février 1922. Cet indigène présentait, au niveau de l'éminence thénar de la main droite, une plaie pénétrante profonde qui a été immédiatement traitée à l'iode et pansée. En outre, il était indiqué d'utiliser les moelles des lapins tués par le virus fixe de Paris pour traiter préventivement le blessé qui reçut ainsi 12 injections de tronçons de moelle du premier au deuxième jour (moelle préparée par le procédé économique Roux-Calmette). Ce traitement n'a donné lieu à aucune remarque.

Considérations générales et conclusions.

Il eût été d'un grand intérêt d'établir l'origine de ces cas de rage et la relation qui a pu exister entre eux. Ce fut malheureusement impossible. Le premier chien serait venu du Congo belge ? c'est tout ce qu'on a pu savoir. Le second chien était à

(1) Ce mouton qui avait reçu en une semaine, dans la jugulaire, le cerveau entier du chien, fut inoculé quarante jours après la dernière injection, partie sous la dure-mère, partie dans la chambre antérieure de l'œil, avec 1/2 cent. cube d'une dilution du virus rabique fixe. 3 mois après, il n'avait présenté aucun symptôme pouvant faire penser à la rage.

Brazzaville depuis plus de deux ans; il était hargneux, batailleur et aurait été mordu quelques semaines auparavant à la patte antérieure gauche, dont on a constaté la tuméfaction, par un autre chien sur lequel il n'a pas été possible d'avoir d'indications.

Il fut également impossible de savoir si le virus observé était autochtone ou d'importation européenne, car la longue incubation de la rage et la possibilité de faire en vingt-trois jours le trajet France-Congo n'excluent pas la possibilité de l'introduction au Congo belge et en Afrique équatoriale française d'un virus capable de revêtir les caractères africains, celui de la non-transmission à l'homme en particulier du virus autochtone, à la suite d'une série de passages en climat tropical. Ces passages peuvent rester longtemps ignorés en milieu indigène.

Quoi qu'il en soit de son origine, on peut affirmer qu'on s'est trouvé en présence d'un virus rabique canin.

Comme l'a dit Heckenroth au Sénégal : « Rien n'est venu jusqu'ici démontrer que le virus indigène n'est pas capable, dans certaines conditions, de devenir virulent pour l'homme et cette incertitude légitime toute la rigueur de la prophylaxie. »

(Institut Pasteur de Brazzaville).

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

36e ANNÉE DÉCEMBRE 1922 N° 12

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Le 27 décembre, l'Institut Pasteur célébrera en une cérémonie tout intime le Centième anniversaire de la naissance de son Fondateur.

L'Ecole Normale supérieure et les Sociétés Scientifiques auxquelles M. Pasteur a appartenu participeront seules à cette fête de la famille pastorienne. Les discours qui seront prononcés à cette occasion seront publiés.

Le Gouvernement a décidé que les fêtes officielles du Centenaire auraient lieu du 20 mai au 2 juin 1923, d'abord à Paris, puis successivement à Dôle, Arbois, Besançon, et enfin à Strasbourg où sera inauguré, en face de l'Université, un monument à la mémoire de M. Pasteur, en même temps que sera ouverte une grande exposition d'Hygiène. Les Gouvernements étrangers et des délégations des Universités françaises et étrangères doivent être invités à prendre part à ces fêtes qui seront, pour le monde civilisé tout entier, l'occasion de manifester la gratitude que chacun doit au puissant et bienfaisant génie de Pasteur.

RECHERCHES
SUR L'URÉE DANS LE SANG DES ANIMAUX

par A. MARIE.

On sait que chez l'homme le titre de l'urée dans le sang peut subir une augmentation très forte au cours de différents états infectieux : de 0 gr. 35, taux moyen de l'urée par litre de sérum humain, le titre peut s'élever à 1 gramme et plus, par exemple au cours d'une fièvre typhoïde, d'une pneumonie. Nous montrerons qu'il en va de même chez les animaux souffrant de toxi-infections diverses.

Mais si l'organisme est entraîné progressivement à subir l'action des microbes et de leurs produits, le taux de l'urée se trouve-t-il modifié chez les animaux ainsi immunisés ? Nous n'avons rencontré aucun document sur cette question, ce qui nous a déterminé à doser l'urée dans les sérums thérapeutiques préparés à l'Institut Pasteur.

Dans une deuxième partie de notre travail, nous étudierons l'action, sur le taux de l'urée, de produits des glandes surrénales.

PREMIÈRE PARTIE

Nos recherches ont porté sur le lapin dont l'urée était dosée dans le sérum suivant le procédé de Fosse : il montre que chez un lapin ne présentant aucune lésion, telle que coccidiose, abcès, normalement alimenté (1), le sérum contient environ 0 gr. 125-0 gr. 140 d'urée par litre.

Le procédé de R. Moog donne un nombre sensiblement plus

(1) Nos dosages ont tous été faits chez des lapins nourris de son et de betterave, en hiver. Il faut garder quelque temps en observation les animaux avant d'expérimenter sur eux, afin de les laisser s'habituer au régime alimentaire.

élevé, de 0 gr. 30, 0 gr. 40, d'après les analyses de L. Martin et A. Pettit dans leur intéressant travail sur « La néphrite et la cirrhose hépatique chez le lapin ». On sait que la technique de Moog consiste à doser l'urée au moyen de l'hypobromite de soude.

Dans sa thèse remarquable sur « Le fonctionnement rénal dans les néphrites chroniques », Pasteur Vallery-Radot fait observer combien est avantageux le procédé à l'hypobromite, puisqu'il permet de doser à la fois l'urée et les corps voisins de l'urée, constituant par leur accumulation dans l'organisme, l'azotémie (1); par exemple, celle-ci pouvait atteindre chez le lapin une moyenne de 2 grammes dans les expériences de Martin et Pettit (2).

Le procédé de Fosse permettant de déterminer le taux de l'urée seule, c'est lui qui convenait le mieux pour nos recherches; nous l'avons suivi exactement.

Nous rappellerons qu'il repose essentiellement sur le pouvoir du xanthydrol de se combiner, parmi les substances azotées, avec l'urée seule, pour former une dixanthylurée insoluble dans les solvants ordinaires. Fosse, à la suite des travaux de L. Hugounenq et A. Morel sur l'emploi du xanthydrol, a d'ailleurs précisé les détails de sa technique dans son important mémoire sur les « Origine et distribution de l'urée dans la nature » auquel on pourra se reporter (3).

Afin d'avoir des résultats comparables pour nos diverses séries d'expériences, nous avons toujours opéré sur 10 cent. cubes de sérum, que fournissent environ 25 cent. cubes de sang; de cette manière, nous avons pu répéter nos dosages sur le sérum du même lapin avant et après l'injection, ce qui serait difficile avec une saignée de 50 cent. cubes, nécessaire pour l'obtention de 20 cent. cubes de sérum, quantité estimée indispensable par M. Nicloux (4) pour les dosages d'après la technique de Fosse, si l'on veut que l'erreur relative ne dépasse pas 5 p. 100.

Nous pensons d'ailleurs qu'il serait très avantageux de pour-

(1) *Thèse*, Paris, 1918, p. 7.
(2) Ces *Annales*, **27**, p. 538.
(3) Ces *Annales*, **30**, p. 589.
(4) *Bull. de Chimie biol.*, **4**, p. 129.

suivre de telles recherches avec l'appareillage de micro-analyse qui a permis à M. Nicloux de doser pondéralement l'urée sur 1 cent. cube, voire sur 0 c. c. 3 de sérum, avec une erreur relative de 2 à 3 p. 100.

La désalbumination des 10 cent. cubes de sérum était faite par l'addition de 10 cent. cubes du réactif iodo-mercurate acétique de Tanret ; après centrifugation du mélange, 10 cent. cubes du liquide surnageant étaient traités par 10 cent. cubes d'acide acétique et 1 cent. cube de xanthydrol méthylique. Le précipité desséché dans une étuve à 39° pouvait être recueilli sur le filtre au moyen d'une spatule et pesé (P).

En opérant avec ces proportions, le titre de l'urée se trouve représenté par :

$$\text{Urée par litre de sérum} = \frac{P}{7} \times 2 \times 100 \text{ grammes.}$$

Voici quelques exemples du rôle des toxi-infections sur le taux de l'urée, déterminé dans le sérum du lapin par ce procédé. Au cours d'une infection par un pneumocoque très virulent, inoculé sous la peau, le taux de l'urée s'est élevé à la vingt-sixième heure à 0 gr. 60, coïncidant avec une température de 41°4. Un streptocoque a provoqué une élévation comparable (0 gr. 50) du taux uréique, à la quarantième heure après une injection intraveineuse. L'infection rabique, par le virus fixe inoculé dans le cerveau, a élevé le titre uréique à 0 gr. 86, au dixième jour de la maladie, en pleine paralysie de l'animal, hypothermique; chez un autre lapin, infecté semblablement, l'urée atteignait 0 gr. 84 au troisième jour de la paralysie (douzième jour après la trépanation). L'intoxication tétanique s'est accompagnée d'une élévation du taux uréique à 0 gr. 28, dans un cas, à 0 gr. 60 dans un autre, également de tétanos splanchnique, apparu vingt-quatre heures après l'injection de 5 cent. cubes de toxine dans le sang.

On pourrait multiplier ces exemples d'élévation du titre de l'urée sanguine : cette substance excrémentitielle peut donc augmenter de façon considérable au cours des toxi-infections et atteindre jusqu'à sept fois son taux normal chez le lapin.

Pour expliquer une telle accumulation d'urée, il faut

avant tout rappeler combien les fonctions rénales peuvent être compromises, souvent d'une façon temporaire, au cours des infections. De plus on sait que leur évolution intéresse la glande surrénale (voir deuxième partie); enfin, dans le cas où elles se prolongent, l'absence d'alimentation vient encore augmenter l'accumulation progressive de l'urée dans les humeurs, et Fosse cite le cas d'un lapin dont l'urée sanguine avait atteint 5 grammes après sept jours de jeûne.

*
* *

Comment se comporte l'urée dans le sang des animaux soumis aux processus d'immunisation antimicrobienne et antitoxique? Augmente-t-elle, ou bien demeure-t-elle sans modifications quantitatives? Nos analyses nous ont montré qu'elle reste inchangée dans les sérums très actifs que nous avons analysés.

Le sérum d'un cheval neuf contient 0 gr. 28 d'urée par litre. Chez les chevaux de l'Institut Pasteur de Garches, fournisseurs des sérums thérapeutiques, nous avons trouvé un taux de l'urée constant de 0 gr. 28, dans tous les échantillons de sérum, sauf dans un sérum antipesteux et dans un sérum antihistolytique : l'un et l'autre contenaient 0 gr. 60 d'urée par litre, dans les deux dosages que nous avons faits.

Ainsi, chez des chevaux soumis à l'action prolongée de produits microbiens extrêmement abondants, le taux de l'urée présente un contraste frappant avec ce qui s'observe chez des animaux d'une autre espèce, souffrant de toxi-infections diverses, puisque cette détermination uréique, chez les chevaux fournisseurs des sérums thérapeutiques, montre que la perméabilité rénale ainsi que l'état d'équilibre azoté se maintiennent intacts chez la presque totalité des animaux.

Il était indiqué de rechercher s'il en va de même pour le sérum de certains chevaux qui, malgré les injections les plus copieuses d'une toxine soluble, fournissent relativement peu d'unités antitoxiques.

Nous avons pu, grâce à l'obligeance de l'Institut Pasteur de Garches, analyser l'urée dans de semblables sérums, sans y reconnaître de changements quantitatifs notables du titre uréique.

Il serait instructif de poursuivre de tels dosages chez les chevaux en cours d'immunisation ; peut-être trouverait-on des modifications du taux de l'urée, au début des inoculations, avant que l'état d'équilibre soit rétabli dans l'organisme animal.

TABLEAU I.

Quantités d'urée dans 1.000 gr. de sérum chez des lapins infectés.

ANIMAUX	INOCULATIONS	JOURS de la saignée	QUANTITÉ d'urée dans le sérum
Lapin 1.950 gr. . .	Culture pneumocoque.	2e jour.	0,60
Lapin 2.200 gr. . .	Virus rabique.	10e —	0,86
Lapin 2.000 gr. . .	Avant l'inoculation.	»	0,12
	Culture streptocoque.	3e —	0,50
Lapin 2.350 gr. . .	Avant la trépanation.	»	0,14
	Virus rabique.	12e jour.	0,84
Lapin 1.820 gr. . .	Avant l'inoculation.	»	0,125
	Toxine tétanique.	3e —	0,28
Lapin 2.100 gr. . .	Toxine tétanique.	4e —	0,60

TABLEAU II.

Quantités d'urée contenues dans 1.000 gr. de sérums thérapeutiques.

SÉRUM	DOSE de sérum analysée	URÉE Quantité en gr. p. 1.000
Cheval neuf.	10 cent. cubes.	0,28
Antivibrion septique.	10 —	0,28
Antiméningococcique	10 —	0,28
Antitétanique	10 —	0,28
Antipneumococcique	10 —	0,28
Antidiphtérique	10 —	0,28
Antistreptococcique.	10 —	0,28
Antidysentérique	10 —	0,28
Antiperfringens	10 —	0,28
Antisporogenes	10 —	0,28
Antiœdematiens.	10 —	0,28
Antivenimeux	10 —	0,28
Antipesteux.	10 —	0,60
Antihistolytique	10 —	0,60

DEUXIÈME PARTIE

Les questions complexes que soulève l'étude des glandes surrénales au cours des toxi-infections nous ont fait doser l'urée dans le sérum des animaux avant et après l'administration parentérale de divers produits des capsules.

L'injection intraveineuse d'une dose de chlorhydrate d'adrénaline neutre, inférieure à la dose mortelle, laquelle est environ de 0 gr. 0002 par kilogramme d'animal, a provoqué d'une façon constante une élévation (0 gr. 60-0 gr. 80) du taux de l'urée dans le sang de lapins d'un poids élevé, et dont le sérum contenait auparavant une quantité normale (0,125) d'urée, ainsi qu'on avait pu s'en assurer pour quelques-uns d'entre eux. Cette élévation du titre uréique, facile à constater dans les douze heures suivantes, se retrouvait chez les animaux encore aux deuxième et troisième jours après l'injection, sans qu'ils aient manifesté ni hyperthermie, ni trouble morbide quelconque.

L'inoculation sous-cutanée de substance corticale des surrénales a également causé une élévation du taux de l'urée dans le sang, jusqu'à 0 gr. 86 et davantage (1 gr. 20 dans un cas). On devait se demander si les lipoïdes entrant dans la composition de l'écorce de la glande n'interviennent pas dans l'accumulation d'une aussi grande quantité d'urée dans le sérum. A vrai dire, ces préparations corticales renferment aussi une minime quantité d'adrénaline, ainsi qu'on peut s'en assurer au moyen du chlorure d'or à 1 p. 300, qui donne au contact de l'émulsion corticale une légère coloration mauve, comme avec l'adrénaline; toutefois, on sait depuis longtemps quelle est la richesse de l'écorce des capsules en lécithine et en cholestérine.

Une injection de 0 gr. 30 de lécithine sous la peau d'un fort lapin a provoqué chez lui l'accumulation de 0 gr. 60 d'urée dans le sérum; 0 gr. 20 de cholestérine injectés semblablement ont donné, également à la quarante-quatrième heure, 0 gr. 86 d'urée. Ces substances, la lécithine et la cholestérine, groupées sous le nom général de lipoïdes, interviennent donc dans l'élévation du titre uréique du sang à la suite de l'administration parentérale de préparations surrénales chez le lapin; dans son sérum, l'urée peut atteindre jusqu'à dix fois son taux normal,

après l'injection de l'écorce des capsules. Leurs produits semblent ainsi troubler le métabolisme chez un animal qui est alimenté normalement et ne présente ni variation spontanée du taux de l'urée sanguine, ni lésion visible de l'appareil rénal.

Si maintenant on procède au dosage de l'urée dans le foie, c'est-à-dire dans l'organe qui constitue le centre de formation

TABLEAU III.

Quantités d'urée dans 1.000 gr. de sérum chez des lapins infectés.

ANIMAUX	INOCULATIONS	DATES des saignées	QUANTITÉ d'urée du sérum
Lapin neuf. . . .	3 c. c. eau physiologique dans la veine.	24e heure.	0,14
Lapin 1.970 gr.. .	0 c. c. 20 chlorhydrate d'adrénaline au millième dans la veine.	24e —	0,88
Lapin 2.570 gr.. .	Avant l'inoculation.		0,14
	0 c. c. 20 chlorhydrate d'adrénaline.	24e —	0,28
Lapin 2.530 gr.. .	Avant l'inoculation.		0,125
	0 c. c. 15 chlorhydrate d'adrénaline.	48e —	0,60
Lapin 2.200 gr.. .	0 gr. 20 poudre écorce surrénale sous la peau.	24e —	0,50
Lapin 1.930 gr.. .	0 gr. 20 poudre écorce surrénale sous la peau.	24e —	1,20
Lapin 2.200 gr.. .	1 c. c. extrait total surrénal dans la veine.	24e —	0,80
Lapin 2.370 gr.. .	0 gr. 30 lécithine sous la peau.	44e —	0,60
Lapin 2.170 gr.. .	0 gr. 20 cholestérine sous la peau.	44e —	0,86

de cette substance, voici ce que l'on trouve. Chez des lapins ayant reçu une quantité convenable d'un sel d'adrénaline, le parenchyme hépatique, de même que le sérum, contenait, après la saignée poussée aussi loin que possible, une quantité d'urée notablement plus grande que le foie des animaux neufs. Ainsi, à la suite d'une injection intraveineuse de 0,20 cent. cube de chlorhydrate d'adrénaline au 1/1.000, en solution neutre, on trouvait un taux d'urée de 0,58, aussi bien dans le paren-

chyme du foie (1) que dans le sérum, soit une dose quintuple de la dose normale.

Nous avons aussi procédé aux essais suivants *in vitro* : chez des lapins normaux, ne présentant aucune lésion des organes, le foie était, après résection de la vésicule, finement broyé, puis émulsionné dans une solution de fluorure de sodium, contenant du chlorhydrate d'adrénaline; après une vingtaine d'heures d'exposition à 38°, l'urée avait atteint un poids double de celle du sérum de l'animal. Voici quelques-uns de ces essais.

Expérience I. — Lapin neuf de 2.200 grammes; aucune lésion hépatique visible chez l'animal, qui est saigné aussi complètement que possible. Foie broyé à l'appareil Latapie; la purée est divisée en deux parties égales en poids: l'une est émulsionnée dans son poids d'une solution centésimale de fluorure de sodium, l'autre dans la même solution additionnée de 1/1.000e de chlorhydrate d'adrénaline neutre. Exposition des deux mélanges pendant vingt-deux heures à 38°, après quoi, la réaction n'ayant pas changé, il est procédé aux dosages de l'urée d'après le procédé de Fosse, sur 10 cent. cubes de chaque émulsion centrifugée. Le sérum contenait 0 gr. 14 d'urée, le foie non adrénaliné 0,26, le foie adrénaliné 0,60. La dose de 0,26 peut s'expliquer par la continuation, après la mort, des processus de l'uréopoïèse. Le foie adrénaliné a donc donné plus du double d'urée.

Expérience II. — Lapin de 1.100 grammes. Foie traité semblablement : urée du sérum 0,13, foie non adrénaliné 0,28; urée du foie adrénaliné 0,52.

Expérience III. — Lapin de 1.980 grammes. Urée du foie sans adrénaline 0,28, urée du foie adrénaliné 0,60.

Expérience IV. — On procède semblablement sur le foie d'un lapin de 2.000 grammes, mais les mélanges, au lieu d'être exposés à 38° sont restés une nuit à la glacière ; ils donnent l'un et l'autre la même quantité d'urée; elle n'a donc pas augmenté en l'absence d'une température de 38°.

Ainsi le foie, mélangé avec une dose convenable d'un sel d'adrénaline, et exposé quelque temps à 38°, peut contenir environ deux fois plus d'urée que le même tissu hépatique, prélevé chez le même lapin, exposé également à l'étuve, mais sans adrénaline.

On sait que les injections de cet alcaloïde produisent de la glycosurie et que cette glycosurie s'accompagne d'hyperglycémie, ainsi que d'une notable diminution, ou même de la dis-

(1) L'organe était broyé dans l'appareil Latapie et émulsionné dans son poids d'une solution fluorée centésimale contenant le sel d'adrénaline : le nombre en grammes d'urée devait donc être multiplié par 2.

parition du glycogène dans le foie. D'autre part, Fosse pense (1) qu'une « importante relation, demeurée jusqu'ici complètement insoupçonnée, existe vraisemblablement entre la glycogénèse et l'uréo-génèse ». On peut supposer que, dans les expériences *in vivo*, montrant cette action de l'adrénaline sur l'élévation du titre uréique dans le foie et dans le sérum, cet alcaloïde favoriserait l'uréopoïèse par son action sur les sucres et peut-être aussi en excitant le pouvoir des ferments qui sont supposés présider à la formation de l'urée. En effet, d'une part, la température de 38° nous a paru indispensable à la réussite de nos expériences *in vitro* sur le foie, d'autre part la quantité d'adrénaline employée doit être petite. Si, au contraire, on procède à des mélanges de foie et d'un grand excès de chlorhydrate d'adrénaline, la dose d'urée demeure la même que dans le foie non adrénaliné, elle n'est pas augmentée, comme si une trop forte quantité d'adrénaline avait neutralisé l'action des ferments qui présideraient à l'uréopoïèse.

Il ne manque pas de composés chimiques dont l'administration provoque l'élévation du taux de l'urée dans le sang; c'est un fait connu en clinique, et on a observé que des alcaloïdes tels que les sels de morphine et de quinine, ou encore le chloral, l'éther, jouissent de ce pouvoir d'augmenter le titre de l'urée sanguine, mais peut-être ces substances agissent-elles en excitant la fonction adrénalinique des surrénales et certains savants ont reconnu un tel pouvoir à des alcaloïdes.

Ce qui fait, dans nos expériences, l'intérêt de cette augmentation du taux uréique, c'est qu'elle survient après l'injection de substances faisant partie intégrante de l'organisme comme la cholestérine, la lécithine, ou bien déversées directement dans la circulation, comme l'adrénaline, suivant un rythme réglé par le sympathique (2).

A. Tournade et M. Chabrol ont démontré, par des expériences probantes, la réalité de l'adrénalinémie physiologique (3), et puisque l'on voit augmenter l'urée sanguine au cours de l'adrénalinémie expérimentale, son étude prend un intérêt nouveau.

(1) *Loc. cit.*, p. 663.
(2) Il serait intéressant de doser l'urée dans le sang du chien avant et après l'excitation des splanchniques.
(3) *C. R. Soc. Biol.*, 86, p. 778, 840, 842, 1137.

Elle se rattache en particulier à celle des lésions adénomateuses des surrénales (Vaquez), que l'on observe si souvent dans les néphrites interstitielles dont l'évolution peut être suivie maintenant grâce aux travaux classiques de Widal sur l'azotémie, témoin fidèle des troubles toxiques dans la maladie de Bright.

Mais, dans nos expériences, les lapins ne présentent aucune lésion rénale du fait de l'injection de produits des capsules, et cependant on s'explique mal l'accumulation, dans le sérum, d'une substance sans seuil telle que l'urée (1), si l'on n'admet pas en outre une insuffisance rénale partielle et temporaire, ainsi qu'on en voit de nombreuses observations chez l'homme. On peut se demander notamment si le rein, par suite de l'injection de produits surrénaux, ne sécréterait pas une moindre quantité d'eau, ce qui ne lui permettrait d'éliminer qu'une fraction de l'urée formée grâce à eux, en excès, et qui s'accumulerait ainsi dans le sang (2).

Les recherches que nous venons de relater dans la deuxième partie de ce travail devraient donc être complétées par le dosage des chlorures, la détermination de la constante uréo-sécrétoire, celle de la tension artérielle, données essentielles que ces premières expériences sur le lapin ne sauraient fournir, et qui sont indispensables pour la solution des questions que pose cette élévation du taux de l'urée dans ses rapports avec les produits des glandes surrénales.

(1) L. Ambard. *Phys. norm. et path. des reins*, Paris, 1920.

(2) On a prétendu que l'administration de l'adrénaline augmentait la teneur du sang en acide urique; mais il est reconnu que la production de l'urée à partir de l'acide urique est extrêmement faible, la majeure partie de celle-ci provenant, dans l'organisme, de l'ammoniaque, des carbonates et des acides aminés, substances qui sont les vrais précurseurs de l'urée.

UN CAS DE RAGE CHEZ UNE LIONNE

par Y. MANOUÉLIAN et J. VIALA
de l'Institut Pasteur de Paris.

On n'a jamais signalé, du moins à notre connaissance, de cas de rage chez le lion, confirmée expérimentalement. Nous venons d'en observer un cas typique.

Un lot de 4 jeunes lionnes âgées de huit mois, venant d'Abyssinie, arrive à Paris. Leur propriétaire remarque que l'une d'elles présente une attitude anormale. Elle est devenue taciturne, triste, se tient à l'écart et refuse de manger. Le lendemain, elle est très agitée et rugit sans cesse. On remarque aussi que le timbre de la voix est devenu plus grave. Au bout de vingt-quatre heures, à cette période d'agitation fait suite une paralysie du train postérieur qui s'accentue rapidement. Le jour suivant, la paralysie a gagné les membres antérieurs. La lionne meurt après une courte agonie. La maladie n'avait duré que trois jours. Cependant M. Bricot, vétérinaire, avait diagnostiqué la rage.

L'autopsie est pratiquée à l'Institut Pasteur : aucune modification apparente du système nerveux central, ni de ses enveloppes. Les viscères paraissent également normaux. L'estomac est vide. L'urine obtenue par la ponction de la vessie accuse une forte glycosurie.

L'examen microscopique de la corne d'Ammon, à l'aide de la méthode de Mann (1), décèle les corpuscules caractéristiques de la rage, décrits par Negri : corpuscules de forme et de dimension variables et le plus souvent inclus dans le cytoplasme et les dendrites des cellules nerveuses. Les corps les plus communs mesurent 3, 5, 10, 15 μ. Leur forme est variable ; généralement arrondis ou ovalaires dans le cytoplasme, ils sont fusiformes dans les prolongements protoplasmiques.

Comme on le sait, ces corpuscules sont entourés par une membrane hyaline et possèdent une structure ; dans une

(1) Pour la technique détaillée, voir Y. Manouélian, Etude des corpuscules de Negri et des formations spéciales à la rage à virus fixe. Ces *Annales*, décembre 1912.

masse homogène rouge il existe des inclusions plus claires, qui, à leur tour, contiennent souvent un ou plusieurs corpuscules. Dans certains corps de Negri toutes les inclusions présentent la même dimension. Il en est qui renferment une inclusion centrale plus volumineuse que les autres; celles-ci l'entourent à la manière d'une couronne. La thionine phéniquée et le bleu polychrome donnent aussi de belles colorations des corpuscules. La masse homogène se colore en bleu azur, les inclusions sont d'une teinte pâle et les petits corpuscules d'un bleu très foncé. L'hématoxyline ferrique de Heidenhain les colore fortement. Pour obtenir une bonne différenciation il faut décolorer énergiquement les coupes ; les corps de Negri résistent alors que tout est décoloré dans la cellule nerveuse. Différenciés suffisamment, ils apparaissent nettement avec toute leur structure.

En 1912, nous avions décrit et figuré une évolution des corps de Negri dans quelques cas de rage des rues, et notamment dans la rage humaine. Depuis, un examen approfondi nous a permis de déceler cette évolution dans tous les cas de rage. Nous l'avons constatée aussi chez la lionne et chez les animaux inoculés avec son virus. En effet, à côté des corps de Negri typiques, il en existe toujours qui, tout en possédant une structure normale, présentent par la méthode de Mann une teinte rougeâtre, violacée ou bleuâtre ; puis ils se vacuolisent et deviennent de plus en plus pâles ; il existe des corps qui sont à la limite de la colorabilité. Assurément les corpuscules de Negri subissent une évolution dont on peut suivre les étapes presque jusqu'à leur disparition. C'est un fait important. Nous reviendrons ultérieurement sur cette question.

L'étude histologique du ganglion plexiforme présente aussi les lésions décrites par Van Gehuchten et Nélis dans la rage. La plupart des cellules nerveuses sont détruites et remplacées par des nodules composés surtout par des éléments mononucléaires. En effet les leucocytes polynucléaires sont rares dans ces nodules. On peut suivre dans une seule coupe toutes les étapes du processus.

Les cellules satellites, qui à l'état normal entourent les cellules nerveuses du ganglion, prolifèrent, envahissent les cellules nerveuses et les détruisent. Comme un grand nombre de

cellules nerveuses sont simultanément atteintes par le même processus, on voit dans les ganglions des zones où il n'existe plus aucun élément nerveux. On constate aussi, dans la corne d'Ammon et surtout dans le ganglion plexiforme, une infiltration accentuée au niveau de la plupart des capillaires et des ramuscules vasculaires, infiltration constituée notamment par des éléments mononucléaires.

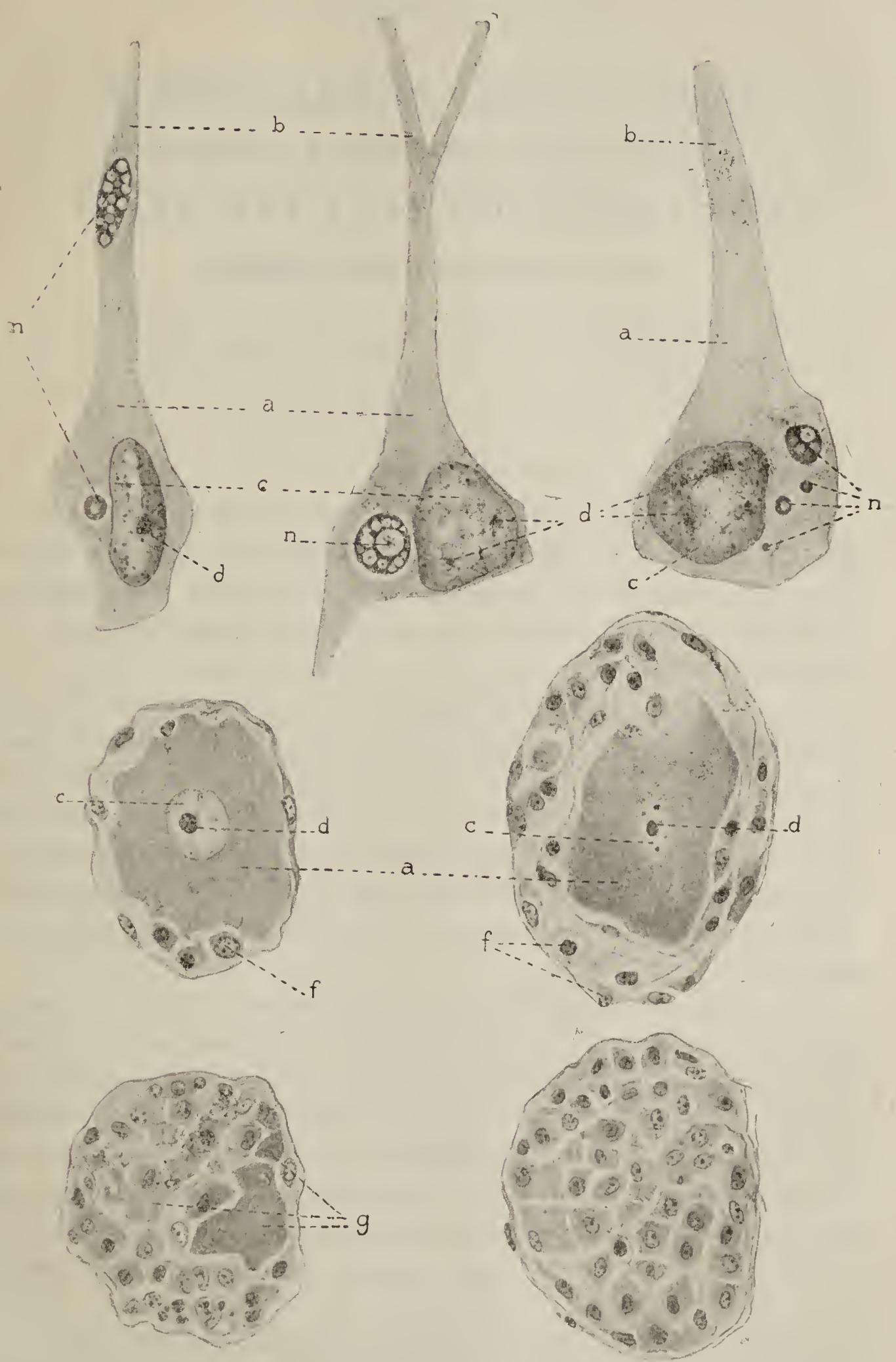
L'émulsion du bulbe rachidien inoculée dans la chambre antérieure de l'œil chez un lapin et dans les muscles cervicaux de deux cobayes a provoqué une rage typique chez tous après quatorze et quinze jours d'incubation. L'examen histologique était positif : corpuscules de Negri dans la corne d'Ammon; destruction des cellules nerveuses du ganglion plexiforme par les cellules satellites.

Au point de vue clinique et histologique, il s'agit bien de la rage chez cette lionne. Il serait intéressant de savoir comment elle a pu la contracter. Est-ce par une morsure de chien ou par une morsure d'un individu de son espèce ? Il nous a été impossible de nous renseigner sur ce point. On peut aussi supposer qu'elle s'est nourrie d'un animal enragé, soit avant sa capture, qui était récente, soit après sa captivité, une blessure faite à la muqueuse buccale par une esquille osseuse ayant permis l'introduction du virus rabique provenant soit de la bave, soit du cerveau et de la moelle de l'animal enragé qui lui a servi de nourriture.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Fig. 1, 2, 3. — Cellules nerveuses de la corne d'Ammon renfermant des corps de Negri, *a*, Cytoplasme; *b*, Prolongement protoplasmique; *c*, Noyau; *d*, Nucléole; *n*, Corps de Negri. Grossissement, 1.780 diam.

Fig. 4, 5, 6, 7. — Cellules du ganglion plexiforme : *a*, *b*, *c*, *d*, comme ci-dessus. — Fig. 6 : Cellule nerveuse normale entourée par les cellules satellites, *f*; *g*, Débris de cellule nerveuse. On voit l'invasion et la destruction des éléments nerveux par les cellules satellites; finalement, ils sont remplacés par celles-ci (fig. 7).



del. EBudin

ÉTUDE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN CONSIDÉRÉ DANS SES RAPPORTS AVEC L'ÉVOLUTION ET LE TRAITEMENT DE LA MALADIE DU SOMMEIL

par les Drs LEFROU et OUZILLEAU.

(Institut Pasteur de Brazzaville.)

La seconde période de la maladie du sommeil étant définie par l'infestation du liquide céphalo-rachidien par les trypanosomes, pour établir le stade de la maladie et ses modifications au cours du traitement, on devrait donc s'efforcer d'y déceler leur présence.

Ces flagellés étant rarement vus à l'examen direct du liquide, l'inoculation de celui-ci à un animal sensible serait le procédé de choix, mais comme cette technique se prête mal à des examens en séries et qu'en second lieu l'infection est plus ou moins facile suivant l'état de réceptivité de l'animal, on s'adresse presque exclusivement à la centrifugation en recherchant les trypanosomes dans le culot du liquide centrifugé.

Or, malgré des prélèvements multiples du culot, comme nous allons le montrer à propos des relations existant entre la réaction méningée et la présence des trypanosomes, les recherches sont souvent négatives. Les résultats ainsi fournis par l'examen du liquide céphalo-rachidien seraient donc de peu d'intérêt pratique, si l'on s'en tenait à cette seule épreuve de centrifugation, mais fort heureusement l'infestation des centres nerveux et des espaces sous-arachnoïdiens se traduit par des altérations cytologiques et chimiques du liquide céphalo-rachidien sur lesquelles il importe d'être fixé pour suivre l'évolution de la maladie et contrôler les effets du traitement.

A. — Examen cytologique.

A l'état normal, le liquide céphalo-rachidien ne renferme que quelques lymphocytes (1 à 3 par millimètre cube); dans la trypanosomiase, la réaction cytologique se traduit par des modifications quantitatives et qualitatives des globules blancs.

Modifications quantitatives.

En principe, le nombre des cellules augmente avec l'évolution de la maladie et il n'est pas rare de constater les chiffres élevés de 1.000 à 2.000 éléments par millimètre cube.

Modifications qualitatives (1).

Au début, l'hyperleucocytose est constituée exclusivement par des lymphocytes, puis avec l'augmentation du nombre des cellules des moyens et grands mononucléaires viennent se surajouter, mais les lymphocytes prédominent toujours ; en général les moyens monos oscillent entre 10 à 20 p. 100 et les grands monos dépassent rarement 5 p. 100. A un stade plus avancé de la maladie, le liquide céphalo-rachidien est envahi par des éléments cellulaires assez particuliers : d'une part, par des grandes cellules à noyau excentrique, à protoplasme creusé de vacuoles très inégales (plasmazellen); d'autre part, par des cellules sans noyau à protoplasme rempli de vacuoles égales qui donnent à ces éléments un aspect mûriforme.

Ces deux formes, mûriformes et vacuolaires, le plus souvent coexistent sur la même préparation et fréquemment, outre ces dernières, on en observe toute une série d'autres (cellules à noyau et quelques vacuoles inégales, cellules à noyau à protoplasme rempli de vacuoles égales, cellules à noyau à contour protoplasmique déchiqueté par l'éclatement des vacuoles, cellules mûriformes plus ou moins fragmentées) que nous avons tendance à considérer comme les états intermédiaires d'un même processus de dégénérescence.

(1) Pour étudier avec rapidité cette morphologie cellulaire, nous avons toujours employé le procédé de Sabrazès au bleu de méthylène à 1/500 : sur une goutte du culot de centrifugation on renverse une lamelle sur laquelle, au préalable, on dépose une goutte de colorant.

L'apparition de ces cellules n'est nullement en rapport avec le nombre des éléments et, au contraire, quand la leucocytose atteint le chiffre de 1.000, elles deviennent rares. D'ailleurs, à la suite d'un traitement, nous avons vu parfois ces cellules disparaître pour faire place exclusivement à des lymphocytes et à des mononucléaires.

Contrairement à Broden (1), nous ne pensons pas que les vacuolaires traduisent un stade plus avancé de la maladie que les mûriformes. Ces éléments révèlent une atteinte profonde des centres nerveux sans qu'il soit possible de considérer chacun d'eux comme facteur de plus ou moins grande gravité.

B. — Examen chimique.

En trypanosomiase, l'albumine est le seul constituant du liquide céphalo-rachidien dont l'étude présente actuellement une réelle valeur (2).

Modifications quantitatives (3).

L'hyperalbuminose est un caractère aussi important que l'hyperleucocytose; en général ces deux éléments progressent avec l'évolution de la maladie, mais la quantité d'albumine varie beaucoup moins que la quantité de cellules. Au début, avec une légère augmentation des lymphocytes, on peut avoir l'albumine sensiblement normale (0,10 à 0,15); ensuite, pour des numérations cellulaires notablement supérieures, la quantité d'albumine peut rester la même. Rarement, d'ailleurs, la dose d'albumine dépasse 1 gramme.

Sous l'influence du traitement, on peut observer une certaine dissociation albumino-cytologique; d'une part, la diminution d'albumine ne suit point celle des cellules; de l'autre, le

(1) Broden, Diagnostic de la maladie du sommeil. *Annales de la Soc. belge de méd. tropicale,* novembre 1920, 1.

(2) Quelques essais de dosage du glucose par la liqueur de Felhing nous ont toujours donné, quel que soit le liquide céphalo-rachidien, une quantité sensiblement normale de glucose.

(3) L'albumine a été dosée par le procédé Denigés au réactif de Tanret; les quantités ainsi obtenues concordent sensiblement avec celles données par le rachialbuminimètre de Sicard et Cantaloube que dans beaucoup de cas, nous avons employé comme moyen de contrôle.

rapport entre la dose d'albumine et le nombre des éléments cellulaires est complètement différent avant ou après traitement.

Les agents thérapeutiques modifiant très facilement la lymphocytose et beaucoup moins l'albuminose, il semble ressortir que les variations de la quantité d'albumine renseignent mieux sur l'évolution méningée que les altérations cytologiques.

Modifications qualitatives.

L'albumine du liquide céphalo-rachidien est composée d'un mélange de sérine et de globuline. A l'état normal, on n'observe que des traces de globuline; dans quelques affections du système nerveux central (méningites chroniques et surtout méningites syphilitiques), l'augmentation des globulines est beaucoup plus considérable que celle de la sérine. Malgré l'incertitude actuelle sur la valeur de cette donnée, il peut être intéressant en trypanosomiase d'être fixé sur cet élément.

Guillain et Gardin ont étudié, dans une note à la Société de Biologie (séance du 25 juin 1921), la réaction de Weichbrodt (*Neurol. Centralblatt*, 1916) dans le liquide céphalo-rachidien; on mélange trois parties d'une solution de sublimé à 1 p. 1.000 et sept parties de liquide céphalo-rachidien; normalement, le mélange reste clair; à l'état pathologique il se trouble immédiatement si la réaction est fortement positive, au bout de deux à trois minutes si elle est faiblement positive.

La réaction est fortement et précocement positive dans la paralysie générale, le tabes, la syphilis cérébro-spinale.

Cette réaction de Weichbrodt semble exister quand le liquide céphalo-rachidien est riche en globuline, Guillain et Gardin ont vu avec Machebœuf, à l'Institut Pasteur, que la réaction de Weichbrodt est fortement positive avec une solution pure de globuline.

Cette réaction étant très simple et très facile à exécuter, nous l'avons expérimentée en trypanosomiase. Après essais, cette réaction étant très sensible, nous avons employé les quantités de 0,3 cent. cube de sublimé et 0,7 cent. cube de liquide céphalo-rachidien mesurées avec des pipettes graduées au 1/10 de cent. cube.

80 réactions de Weichbrodt ont été ainsi pratiquées :

15 avec des liquides céphalo-rachidiens sans réaction méningée, c'est-à-dire albumine à 0,15 et cellules de 0 à 20. Pour ces liquides céphalo-rachidiens, le Weichbrodt a toujours été négatif.

65 avec liquide céphalo-rachidien dénotant une réaction méningée. Sur ce nombre, 52 avaient une dose d'albumine supérieure à 0,20 et un nombre de cellules variant de 50 à 2.000. Le Weichbrodt a toujours été fortement positif. Les 13 autres liquides céphalo-rachidiens avaient une dose d'albumine égale ou inférieure à 0,20 et leur examen peut être rapporté comme il suit :

WEICHBRODT POSITIF			WEICHBRODT NÉGATIF		
CELLULES	ALBUMINE	CENTRIFUGATION	CELLULES	ALBUMINE	CENTRIFUGATION
44	0,20	O. T.	60	0,20	O. T.
140	0,20	O. T.	44	0,10	O. T.
128	0,20	O. T.	52	0,10	O. T.
184	0,20	O. T.	82	0,10	O. T.
400	0,20	O. T.	88	0,10	O. T.
296	0,10	O. T.			
324	0,10	O. T.			
580	0,10	O. T.			

Ainsi sur 6 cas avec 0,20 d'albumine, 1 cas a donné un Weichbrodt négatif.

Sur 7 réactions méningées, marquées seulement par de la lymphocytose, 3 Weichbrodt positifs (apparition non immédiate, mais en moins de deux minutes).

Ces trois dernières réactions, d'ailleurs d'une extrême rareté au point de vue rapport albumine et cellules, sont les plus intéressantes, mais actuellement il est difficile d'apprécier, quant à l'évolution méningée, la valeur de cette richesse en globuline. En tout cas, le Weichbrodt positif témoigne d'une modification chimique dont il y a lieu de tenir compte dans les renseignements fournis par l'examen du liquide céphalo-rachidien, surtout quand il s'agit de faible dose d'albumine.

Aux affections du système nerveux central à réaction de Weichbrodt fortement positive, il faut donc ajouter la trypanosomiase à la deuxième période.

C. — Relations entre la présence des trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien et la réaction méningée.

Théoriquement, l'absence ou la présence de trypanosomes servant à diagnostiquer la deuxième période de la maladie du sommeil, il est nécessaire d'être fixé sur la relation qui lie trypanosomes et réaction méningée.

Tout d'abord, que doit-on entendre par réaction méningée?

A l'état normal le liquide céphalo-rachidien contient 0,10 à 0,15 d'albumine p. 1.000 et renferme 1 à 3 lymphocytes par millimètre cube; toute augmentation de ces deux éléments traduit une réaction méningée.

Dans l'appréciation précédente, il faut tenir compte des variations physiologiques et du procédé de mesure employé.

Pour l'albumine, les variations physiologiques sont insignifiantes et les techniques employées, méthode de Denigès au réactif de Tanret ou rachi-albuminimètre de Sicard et Cantaloube sont assez précises, pour qu'à partir de 0,20 d'albumine on puisse considérer cette quantité comme pathologique.

Quant à la lymphocytose, les données sont loin d'être aussi précises. D'abord, il existe des variations physiologiques en rapport avec le moment du prélèvement du liquide céphalo-rachidien (pour la numération, nous avons toujours prélevé au milieu de la ponction lombaire), le niveau de la ponction lombaire, la position du malade couché ou assis (nous avons toujours opéré sur des malades assis). Ensuite il faut tenir compte de l'appareil de mesure employé; faute de cellule de Nageotte, nous nous sommes servis de l'hématimètre de Malassez. L'erreur que l'on peut commettre avec ce compte-globules est sans importance lorsqu'il s'agit d'étudier les variations d'une lymphocytose notable, mais elle rend très difficile l'appréciation d'une lymphocytose avoisinant la normale.

Aussi par nécessité, pour la classification des observations, nous avons admis le principe suivant :

Il existe une réaction méningée pathologique au-dessus de 20 cellules et de 0,15 d'albumine.

Il est bien entendu que ce chiffre de 20 ne signifie nullement qu'à l'état normal le liquide céphalo-rachidien contienne 20 cellules par millimètre cube, mais comme l'examen d'un même liquide céphalo-rachidien nous a donné parfois, suivant les cas, 4 à 20 cellules, ce chiffre de 20 nous a paru la limite extrême à partir de laquelle on pouvait considérer la lymphocytose comme sûrement pathologique en trypanosomiase.

La réaction méningée ainsi définie, *toute réaction méningée signifie-t-elle infestation du liquide céphalo-rachidien par les trypanosomes?*

Nous allons essayer à l'aide de nos observations de préciser les données acquises sur ce sujet.

Les tableaux suivants exposent les résultats fournis par l'examen de 240 liquides céphalo-rachidiens pathologiques de sujets trypanosomés.

100 liquides céphalo-rachidiens avec présence de trypanosomes.
140 liquides céphalo-rachidiens sans trypanosomes.

Pour mettre en évidence l'influence des deux facteurs cellules et albumine sur la présence des trypanosomes, il est nécessaire de les considérer séparément comme il suit :

Relation de la réaction méningée avec présence des trypanosomes suivant le nombre d'éléments cellulaires.

NOMBRE de réactions méningées	PROPORTION de réactions méningées	POURCENTAGE de la présence des trypanosomes
13 de 28 à 50 cellules.	0 avec T. 13 sans T.	0 p. 100
62 de 50 à 150 cellules.	7 avec T. 55 sans T.	11,2 p. 100
74 de 160 à 400 cellules.	27 avec T. 47 sans T.	36,5 p. 100
91 de 410 à 2.000 cellules.	66 avec T. 25 sans T.	72,5 p. 100

Relation de la réaction méningée avec la présence des trypanosomes suivant la quantité d'albumine.

NOMBRE de réactions méningées	PROPORTION de réactions méningées	POURCENTAGE de la présence des trypanosomes
17 avec 0,10 d'albumine.	0 avec T. 17 sans T.	0 p. 100
34 avec 0,20 d'albumine.	7 avec T. 27 sans T.	20 p. 100
108, de 0,30 à 0,50 d'albumine.	33 avec T. 75 sans T.	30 p. 100
81, de 0,60 à 1 gr. d'albumine.	60 avec T. 21 sans T.	74 p. 100

Pour les réactions méningées d'intensité moyenne le rapport entre les cellules, l'albumine et la présence des trypanosomes est encore plus saisissant si l'on s'en réfère à l'exposé complet ci-après de l'examen des liquides céphalo-rachidiens avec présence de trypanosomes : 7 avec moins de 150 cellules, 7 avec 0,20 d'albumine.

NOMBRE de réactions méningées	CELLULES	ALBUMINE	CENTRIFUGATION	NOMBRE de réactions méningées	CELLULES	ALBUMINE	CENTRIFUGATION
7 avec moins de 150 cellules.	50	0,20	T.	7 avec albumine 0,20.	50	0,20	T.
	54	0,40	T.		80	0,20	T.
	64	0,40	T.		160	0,20	T.
	72	0,40	T.		184	0,20	T.
	80	0,20	T.		258	0,20	T.
	96	0,50	T.		280	0,20	T.
	130	0,70	T.		336	0,20	T.

Ainsi, on constate qu'au-dessous de 50 cellules et 0,20 d'albumine, les trypanosomes ne sont pas découverts à la centrifugation.

Quelle valeur doit-on attribuer à ces faibles réactions méningées? Sont-elles l'indice du commencement d'infestation des centres nerveux par les trypanosomes ou traduisent-elles sim-

plement des lésions congestives inflammatoires d'origine toxi-infectieuse? Il est difficile d'être fixé sur ces hypothèses, même avec l'inoculation. Tout ce que l'on peut dire, c'est que ces réactions disparaissent avec beaucoup de facilité sous l'influence du traitement; mais le recul de nos observations n'est pas suffisant pour nous prononcer encore sur leur véritable signification au point de vue évolution.

Quant aux autres réactions méningées au-dessus de 50 cellules et à partir de 0,20 d'albumine, les observations relatées montrent clairement que les trypanosomes sont d'autant plus facilement décelés dans le liquide céphalo-rachidien que le nombre des cellules et la quantité d'albumine sont élevés. *Mais le nombre des trypanosomes et la facilité de leur recherche n'est nullement en rapport avec l'intensité de la réaction méningée;* avec 100 lymphocytes et 0,20 d'albumine on peut trouver au premier examen des trypanosomes, alors qu'avec 1.000 cellules et 0,80 d'albumine il faut plusieurs examens du culot pour découvrir un trypanosome.

L'existence des vacuolaires et des mûriformes semble sans grande influence sur la présence des trypanosomes : sur 53 réactions méningées avec vacuolaires et mûriformes, 29 avec trypanosomes, 24 sans trypanosomes.

De tout ce qui précède, il ressort que la présence des trypanosomes dans le culot de centrifugation du liquide céphalo-rachidien est une donnée trop inconstante pour être prise pratiquement en considération; dans le critérium de la deuxième période de la maladie du sommeil, il faut admettre que du moment que les réactions méningées sont compatibles avec la présence des trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien, toute réaction méningée (réserve faite pour celles au-dessous de 50 cellules et 0,20 d'albumine) traduit l'infestation des centres nerveux par le trypanosome.

Cette conception est d'autant plus logique que très souvent l'évolution la corrobore : ainsi nous avons vu un malade dont le liquide céphalo-rachidien présentait 75 lymphocytes, 0,20 d'albumine, centrifugation négative, avoir quatre mois après 672 cellules, 0,60 d'albumine et trypanosomes à la centrifugation. Sur ce sujet nous n'avons voulu fournir aucune statistique, car d'une part, il faudrait poursuivre les observations

pendant plusieurs années; de l'autre, le traitement appliqué vient fausser les résultats.

En résumé et comme conclusion, réserve faite sur les procédés de mesures employés, les principes suivants peuvent être formulés. *Chez les indigènes trypanosomés* :

1° De 0 à 20 cellules et de 0,10 à 0,15 d'albumine, le liquide céphalo-rachidien peut être considéré comme normal;

2° De 20 à 50 cellules et au-dessous de 0,20 d'albumine, il y a doute sur l'existence de la deuxième période; en tout cas on ne trouve pas de trypanosome à la centrifugation du liquide céphalo-rachidien;

3° Au-dessus de 50 cellules et à partir de 0,20 d'albumine on peut affirmer la seconde période, même en l'absence des trypanosomes à la centrifugation du liquide céphalo-rachidien.

D. — Relation entre la présence des trypanosomes dans le sang et dans la lymphe et la réaction méningée.

En pratique courante, le simple examen de la lymphe recueillie par ponction des ganglions et l'examen du culot de centrifugation du sang (technique de Martin et Lebœuf au sang citraté) sont les seuls moyens employés pour diagnostiquer ou contrôler l'efficacité du traitement de la maladie du sommeil.

L'inoculation du sang ou du suc ganglionnaire à un animal sensible est un procédé rarement employé pour les raisons déjà invoquées pour le liquide céphalo-rachidien.

Des résultats précédents, on peut conclure à la contagiosité ou non-contagiosité du malade, mais cette donnée n'implique rien en ce qui concerne l'état des centres nerveux et du liquide céphalo-rachidien, les trypanosomes pouvant ne pas exister dans le sang et au contraire être très abondants dans le liquide céphalo-rachidien. Ce fait se produit parfois spontanément et en dehors de tout traitement chez les malades avancés. Il se manifeste encore très souvent chez les malades à la seconde période sous l'influence du traitement qui, stérilisant la circulation périphérique, atteint moins directement les centres nerveux et les trypanosomes qui y ont pris refuge.

Le tableau suivant met en évidence le manque de rapport entre l'état du sang et celui du liquide céphalo-rachidien.

Relation entre la centrifugation du sang et la réaction méningée.

TEMPS ÉCOULÉ depuis le diagnostic	NOMBRE des sujets	PROPORTION des centrifugations	PROPORTION des réactions méningées par rapport aux centrifugations	PROPORTION des réactions méningées par rapport au nombre des sujets
0 au moment diagnostic.	150	150 T.	76 sans R. M. 74 avec R. M.	76 sans R. M. 74 avec R. M.
8 mois à 1 an.	24	7 T.	3 sans R. M. 4 avec R. M.	10 sans R. M.
		17 O. T.	7 sans R. M. 10 avec R. M.	14 avec R. M.
1 an à 2 ans.	94	10 T.	3 sans R. M. 7 avec R. M.	65 sans R. M.
		84 O. T.	62 sans R. M. 22 avec R. M.	29 avec R. M.
2 ans à 3 ans.	26	8 T.	4 sans R. M. 4 avec R. M.	17 sans R. M.
		180 O. T.	13 sans R. M. 5 avec R. M.	9 avec R. M.
3 ans à 4 ans.	21	3 T.	2 sans R. M. 1 avec R. M.	15 sans R. M.
		18 O. T.	13 sans R. M. 5 avec R. M.	6 avec R. M.
4 ans à 8 ans.	20	2 T.	1 sans R. M. 1 avec R. M.	14 sans R. M.
		18 O. T.	13 sans R. M. 5 avec R. M.	6 avec R. M.
11 ans à 13 ans.	6	0 T.	»	5 sans R. M.
		6 O. T.	5 sans R. M. 1 avec R. M.	1 avec R. M.

La recherche des trypanosomes dans le suc ganglionnaire est encore une méthode plus infidèle que la centrifugation du sang pour suivre l'évolution de la maladie, car très souvent à un stade avancé de la maladie, spontanément ou sous l'influence du traitement, les ganglions disparaissent.

Ainsi, l'examen du sang ou de la lymphe ne peut renseigner sur l'évolution de la maladie, et il est absolument nécessaire de s'adresser à l'examen du liquide céphalo-rachidien.

E. — Relations entre les réactions méningées et les signes cliniques.

a) *Symptômes généraux.*

Amaigrissement. — L'amaigrissement est un des symptômes généraux les plus importants de la deuxième période; aussi la pesée est-elle un moyen fréquemment employé pour suivre l'évolution et contrôler le traitement.

La diminution de poids, toute affection intercurrente éliminée (helminthiase surtout), doit toujours faire penser à l'aggravation de la maladie. Mais il s'en faut que ce phénomène soit progressif du début à la fin de celle-ci. Si, au stage ultime, les trypanosomés accusent bien une grosse diminution de poids qui fait pressentir une échéance fatale, il est nécessaire d'observer que pendant très longtemps, au cours de la deuxième période, les malades changent très peu de poids et même qu'au contraire, le plus souvent, sous l'influence de l'arsenic, le poids augmente et l'état du patient s'améliore. Or, si dans ces conditions on pratique des ponctions lombaires en séries, on constate que la réaction méningée existe toujours et que ses variations ne coïncident nullement avec celle du poids, ni avec celle de l'état général du malade.

Nous citerons à ce sujet quelques observations :

Djemaka pèse 41 kilogrammes le 2 mai 1920 lorsqu'elle est reconnue trypanosomée et entre à l'hôpital. Elle est alors dans un état d'impotence absolue. Le 10 août, après une série d'atoxyl-émétique, elle pèse 47 kilogrammes (augmentation de 6 kilogrammes en trois mois) et a recouvré l'usage de toutes ses fonctions motrices. Le 13 décembre, elle pèse 58 kilogrammes et jouit d'un état général qui semble excellent. Et cependant la ponction lombaire pratiquée ce même jour révèle une lymphocytose à 250 et

la présence de trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien. Elle meurt en mars 1921.

Kapi pèse 61 kllogrammes lorsqu'il est reconnu trypanosomé le 3 novembre 1917. Soigné, puis perdu de vue, il réapparaît le 26 juillet 1920, il pèse à cette date 67 kilogrammes et la ponction lombaire est positive avec des trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien. Mis à l'atoxyl émétique, il arrive à peser 74 kilogrammes le 6 décembre, soit quatre mois et demi après. A ce moment, malgré la disparition des trypanosomes du liquide céphalo-rachidien, celui ci révèle une lymphocytose à 200. Cependant, le poids ne cesse de progresser, le malade pèse 78 kilogrammes le 26 janvier 1921. Il meurt le 20 août 1921 après avoir présenté des crises épileptiformes, mais sans avoir montré un amaigrissement marqué et proportionnel à la chute de son état réel, il pesait encore 72 kilogrammes en juillet.

Mboyo passe à la suite du traitement de 56 kilogrammes le 21 mars 1921 à 68 kilogrammes le 22 décembre 1921; cependant, à cette époque, le liquide céphalo-rachidien présente 308 cellules et 0,70 d'albumine.

Boy Moké grossit de 15 kilogrammes en neuf mois (de 58 kilogrammes en juillet 1921 à 73 en mars 1922), à cette date, la réaction méningée s'exprime encore par 236 cellules et 0,50 d'albumine.

Damogognia gagne 14 kilogrammes en quinze mois, elle pesait 53 kilogrammes le 20 janvier 1921 et présentait à cette date un liquide céphalo-rachidien avec 160 cellules, 0,15 d'albumine et des trypanosomes; elle pèse 67 kilogrammes le 31 mars 1922, jouit d'un bon état de santé apparent. Et cependant la réaction méningée est exagérée, elle est à 260 cellules avec 0,60 d'albumlne.

Ces faits sont communs; ils démontrent que la pesée ne doit pas être considérée comme un guide fidèle de l'évolution de la maladie.

b) *Symptômes cérébro-spinaux.*

Les faibles réactions méningées (lymphocytose ne dépassant pas 50, albumine au-dessous de 0,20) existent toujours sans aucune manifestation clinique; peut-être la céphalée en est-elle un symptôme, mais chez les indigènes c'est un phénomène éminemment trop subjectif pour être pris en considération.

Avec l'augmentation des cellules et de l'albumine, traduction de l'atteinte de plus en plus grave des centres nerveux, les manifestations cliniques apparaissent.

Il est hors de notre but d'exposer ici les rapports reliant les différents symptômes cérébro-spinaux, les lésions des centres nerveux et la plus ou moins grande intensité de la réaction mé-

ningée avec présence ou absence de trypanosome. Au point de vue pratique, il nous suffit de savoir que lorsque chez un trypanosomé on constate des troubles mentaux, des paralysies et des tremblements, des crises convulsives, des attaques de sommeil, on peut conclure avec certitude que la maladie est à la deuxième période; les trypanosomes ont envahi le système nerveux.

Si les symptômes cérébro-spinaux accusés impliquent l'existence d'une réaction méningée, la réciproque n'est nullement vraie, il peut exister des réactions méningées sans aucune manifestation clinique, ce sont, pourrait-on dire, des « trypanosomiases nerveuses latentes ».

Dès le début de leur étude sur la maladie du sommeil Martin et Lebœuf avaient signalé ces « cas en bon état », chez lesquels cependant on trouve des trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien. En réalité ces « trypanosomiases nerveuses latentes » sont assez rares, et leur nombre diminue beaucoup si on soumet les malades à un examen très minutieux : sur 250 réactions méningées nous avons seulement trouvé 12 cas, soit 5 p. 100 environ sans symptômes cliniques concomitants. Notre pratique systématique de la ponction lombaire nous a permis d'attribuer une certaine valeur à quelques symptômes pour dépister une réaction méningée de prime abord latente ; nous allons en faire une description sommaire :

Somnolence. — La somnolence, état intermédiaire entre la veille et le sommeil, est caractérisée par ce fait que l'on peut très facilement tirer le malade de cette situation en l'appelant par son nom.

Comme L. Martin et Darré l'avaient déjà remarqué, la somnolence est à la fois un sympôme précoce et tardif de la trypanosomiase (1).

Au début de la maladie, nous n'avons guère constaté de la somnolence que chez des malades dont le sang montrait à l'examen direct de nombreux trypanosomes; ce symptôme semble correspondre alors à l'invasion de l'organisme par les

(1) L. Martin et Darré, Remarques sur l'évolution et le pronostic de la trypanosomiase chez les blancs. *Bull. Soc. Path. exot.*, 8 juin 1910.

trypanosomes; il disparaît très facilement sous l'influence du traitement.

Au stade d'état de la première période de la maladie du sommeil, lorsque celle-ci n'est reconnue que par la présence des trypanosomes dans les ganglions ou le culot de centrifugation du sang, la somnolence est très rare et l'insomnie est, au contraire, très fréquente.

Avec l'évolution de la maladie, on voit réapparaître les crises de somnolence qui deviennent progressivement des attaques de sommeil. Chaque fois qu'au cours de la surveillance du traitement, un malade présentait de la somnolence, la ponction lombaire pratiquée systématiquement a toujours décelé une réaction méningée, hyperleucocytose et hyperalbuminose du liquide céphalo-rachidien. Ce symptôme est souvent unique et demande à être recherché quelquefois par une observation prolongée du malade; ainsi on ne risque pas de laisser passer inaperçu ce phénomène qui à lui seul permet d'éliminer le diagnostic de trypanosomiase nerveuse latente.

Troubles moteurs. — La moindre incoordination de la marche doit faire penser à une atteinte spinale; aussi pour apprécier l'évolution de la maladie doit-on toujours faire marcher le patient. Avant la grande incoordination le malade se contente de talonner ou de traîner les pieds; le Romberg doit toujours être recherché; aussitôt, en effet, que le sujet ne peut plus se tenir sur une jambe les yeux fermés il existe une réaction méningée.

Contraction des muscles de la face.—Les grimaces ébauchées spontanément ou les contractions des muscles de la face provoquées sous l'influence d'un léger effleurement sont, quoi qu'il en soit de leur pathogénie, des symptômes de grande valeur pour révéler une réaction méningée. Chez les enfants indigènes les mouvements choréiformes plus ou moins généralisés doivent faire soupçonner une trypanosomiase à réaction méningée.

Habitus du malade. — Pour dépister une réaction méningée il faut aussi tenir compte de l'habitus spécial du malade, aspect difficile à définir mais qui frappe lorsque l'on a l'habi-

tude de l'examen des indigènes, c'est un « je ne sais quoi », pourrait-on dire, qui tient du facies hébété de la fixité du regard et qui fait que l'on se méfie des méninges du malade.

Quoi qu'il en soit de l'importance des manifestations cliniques pour présumer des réactions méningées, les résultats ainsi obtenus sont toujours d'ordre qualitatif et non quantitatif. Or pour établir et contrôler un traitement, suivre l'évolution de la maladie, il ne suffit pas d'être fixé avec probabilité sur la présence ou l'absence de réaction méningée, il est absolument indispensable de connaître les modifications de la réaction, seul témoin indubitable de l'atteinte plus ou moins grave des centres nerveux.

Comme facteur quantitatif de la réaction méningée les signes cliniques perdent toute valeur, car il n'y a aucun parallélisme entre leur apparition, leur nature, leur intensité et les variations de la réaction méningée. Très souvent pour les malades à la deuxième période, spontanément ou sous l'influence du traitement, des améliorations peuvent survenir; mais celles-ci sont très trompeuses, car la réaction méningée existe encore, n'en continue pas moins son évolution qui tôt ou tard va se traduire par une rechute. Dans un travail ultérieur, à propos du traitement de la deuxième période nous citerons de nombreux exemples de tels faits ; il nous paraît inutile d'y insister maintenant.

En résumé les données de ce travail peuvent être exposées comme il suit :

1° La deuxième période de la maladie du sommeil, définie théoriquement par la présence des trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien et les centres nerveux, doit être caractérisée pratiquement par l'existence d'une réaction méningée traduite par des modifications cytologiques et chimiques du liquide céphalo-rachidien ;

2° La présence ou l'absence des trypanosomes dans le sang ou le suc ganglionnaire renseigne sur la contagiosité ou non-contagiosité du sujet, mais n'indique rien en ce qui concerne la marche de la maladie ;

3° Les manifestations cliniques sont des signes infidèles de l'évolution, car il n'y a aucun parallélisme entre leur apparition,

leur nature, leur intensité et les variations de la réaction méningée;

4° *Comme conclusion, l'examen du liquide céphalo-rachidien doit être la base principale du criterium de l'évolution et du traitement de la maladie du sommeil.*

(Travail de l'Institut Pasteur de Brazzaville.)

NOTE SUR DEUX ÉPIDÉMIES DE DENGUE A BEYROUTH

(1920-1921)

par L. COUVY.

Au cours d'une épidémie, qui sévit à Beyrouth (Syrie), pendant l'été 1920, et qui avait été diagnostiquée : *dengue*, je constatai, à plusieurs reprises, la présence de très rares spirochètes sur des étalements de sang, prélevés chez des malades en incubation, une heure ou deux avant le début de la fièvre (1).

L'été 1921 ramena à *Beyrouth* une épidémie analogue à celle de l'année précédente. Des examens directs me permirent de retrouver le spirochète dans le sang d'un certain nombre de malades, et, non seulement avant l'apparition de la fièvre, comme en 1920, mais au cours de la période fébrile, de trois à vingt-quatre heures après le début de l'accès.

Les spirochètes se montrent toujours très rares. Ils présentent deux à trois tours de spire : ils sont extrêmement fins, à extrémités effilées. Ils sont décelés difficilement par le Giemsa, mieux par le nitrate d'argent ammoniacal (procédé Fontana-Tribondeau).

Le sang des malades, prélevé en période fébrile, et inoculé au lapin, par voie intrapéritonéale, provoque une affection fébrile, dont la courbe présente des caractères identiques à ceux de la maladie chez l'homme.

Après une incubation de quatre à sept jours, on observe une ascension thermique brutale; la défervescence se produit au bout de quarante-huit heures. Enfin, à une période d'apyrexie de cinq à sept jours, succède une nouvelle ascension thermique de courte durée (fig. 1).

Au moment de l'accès et de la rechute, il y a de rares spirochètes dans le sang périphérique du lapin.

(1) *Bull. de la Soc. de path. exotique*, avril 1921, p. 198.

A part l'élévation de la température, l'animal en expérience ne présente aucun signe apparent de malaise.

Un lapin a été sacrifié trois jours après la rechute. Il fut impossible de retrouver le spirochète dans les frottis du foie, du rein et de la rate.

La maladie est transmissible, de lapin à lapin, par inoculation intrapéritonéale de sang prélevé au cours d'un accès

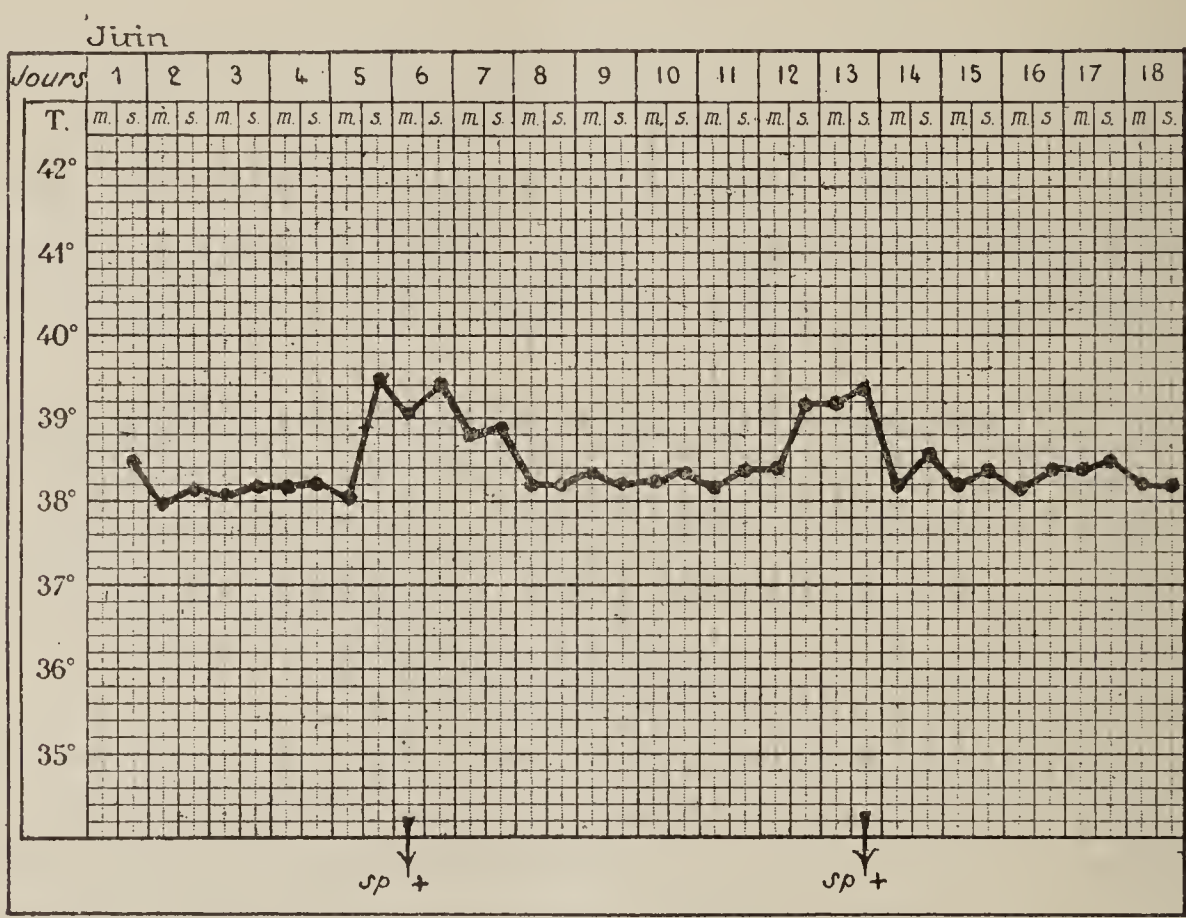


Fig. 1. — Lapin inoculé le 1er juin, par voie intrapéritonéale, avec 2 cent. cubes de sang citraté, prélevé sur un malade en période fébrile.

fébrile : trois passages en série, sans modification apparente du virus.

L'existence des *Stegomyia*, l'abondance des *Culex*, permettaient d'attribuer au moustique un rôle dans la diffusion de la maladie humaine, suivant les données classiques de Graham, de Bancroft, d'Ashburn, de Craig.

Cependant, les Phlébotomes (*Phl. pappatasii*) abondaient à Beyrouth pendant la même période. Il m'a paru intéressant de rechercher si ces insectes ne pouvaient être mis en cause dans la transmission de la maladie.

Le lapin s'était montré sensible à l'inoculation du virus humain; il fut choisi comme animal d'expérience.

Tentatives de contamination par piqûres de Phlébotomes.

Il ne put être fait qu'une seule tentative de contamination par piqûres. Le résultat fut négatif :

Expérience II. — 10 Phlébotomes sont capturés, gorgés de sang, dans la moustiquaire d'un malade, au deuxième jour du premier accès fébrile. Après trois jours de jeûne, ils sont placés, trois jours de suite, les 16, 17, 18 mai, sur le dos d'un lapin. Le premier jour, six Phlébotomes piquent, le deuxième jour 4, le troisième jour 4. Le 26, c'est-à-dire dix jours après le début de l'expérience, l'animal présente une élévation de température de un demi-degré, avec retour à la normale, dès le lendemain. Il serait imprudent d'attribuer cette élévation fugace de la température à une infection due aux piqûres, l'animal n'ayant pas présenté de spirochètes à l'examen direct du sang, et une inoculation intrapéritonéale de sang, faite à un second lapin, étant restée sans résultat.

Inoculation de Phlébotomes broyés.

L'inoculation, par voie intrapéritonéale et par voie sous-cutanée, de Phlébotomes broyés, a déterminé, chez le lapin, une affection fébrile, de courte durée, à rechute, identique à celle constatée après l'inoculation de sang humain virulent.

Expérience III. — Six Phlébotomes, capturés en milieu épidémique, sont conservés à jeun pendant quatre jours. (Après cette période l'abdomen est entièrement débarrassé du sang de la digestion.) Après ablation des ailes et des pattes, les six Phlébotomes sont broyés dans de l'eau physiologique, et inoculés dans le péritoine d'un lapin. Neuf jours après l'inoculation, ascension brusque de la température, qui se maintient pendant trente-six heures à un degré au-dessus de la normale. Après quatre jours d'apyrexie, nouvelle ascension thermique, suivie, dix jours après, d'une troisième rechute (fig. 2).

Au moment des deux premiers accès, il y avait de rares spirochètes dans le sang périphérique.

Expérience IV. — Deux Phlébotomes, capturés en milieu épidémique, sont broyés après quatre jours de jeûne, et inoculés dans le tissu cellulaire d'un lapin. Dix jours après, on constate une brusque élévation thermique, avec présence de rares spirochètes dans le sang périphérique. Rechute après quatre jours d'apyrexie (fig. 3).

Faute de temps, les recherches furent écourtées, des expériences projetées durent être provisoirement abandonnées.

Mais déjà les constatations des expériences III et IV plaident en faveur du rôle du Phlébotome dans la propagation de l'épidémie en cause. Cette hypothèse est confirmée par les données épidémiologiques suivantes :

Au cours de l'été 1921, dans une localité du Liban, isolée, et sans culicides, mais infestée de très nombreux Phlébotomes,

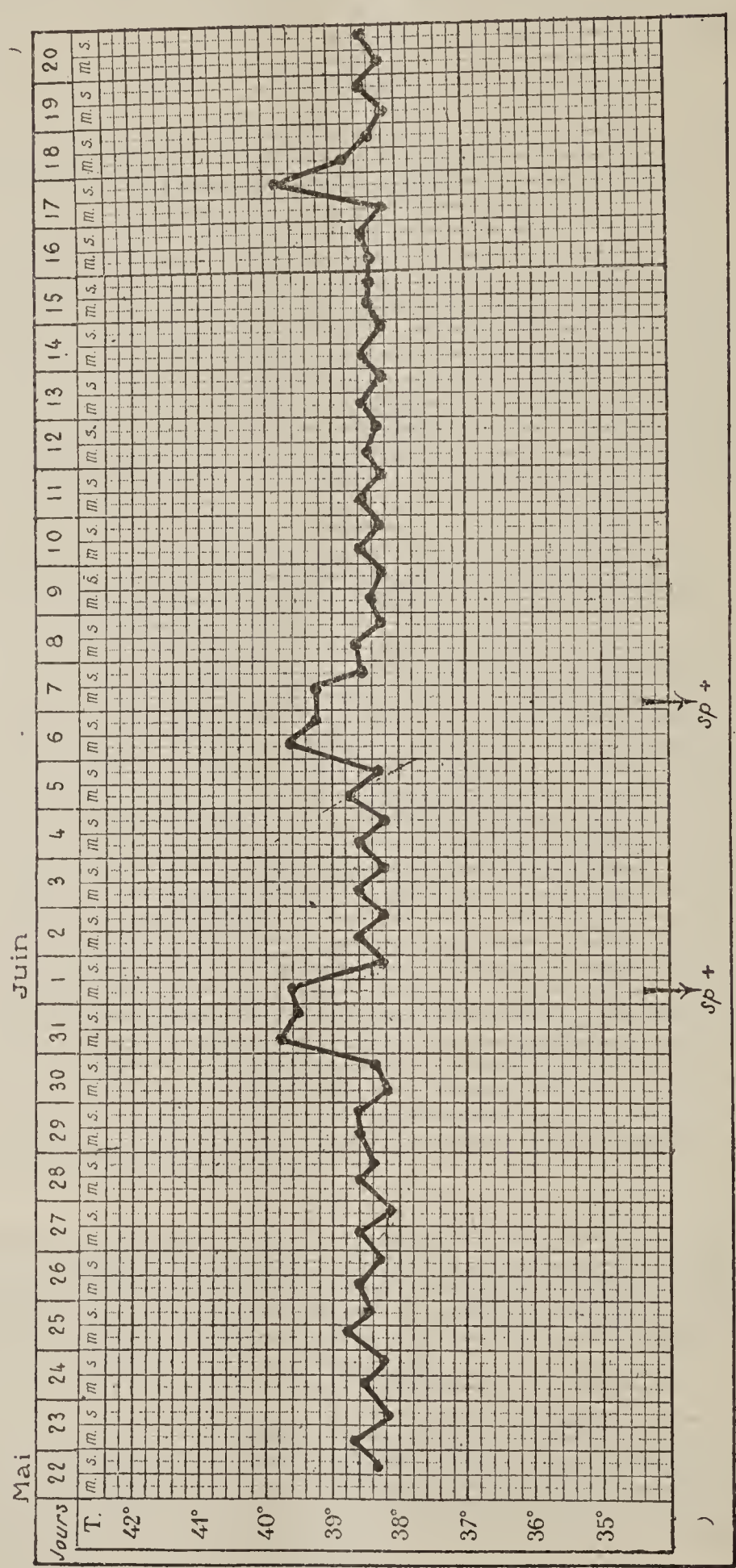


FIGURE 2.

Lapin inoculé, par voie intrapéritonéale, avec six Phlébotomes broyés.

l'épidémie sévit avec intensité et atteignit tous ceux des habitants qui n'étaient pas immunisés par une atteinte antérieure.

Du moment où l'on admet l'intervention du Phlébotome dans la transmission de cette maladie épidémique, on ne peut manquer de voir s'élever des doutes dans l'exactitude du diagnostic posé : *dengue*. Ne s'agissait-il pas plutôt de la *fièvre à pappataci*?

Nous croyons devoir confirmer le premier diagnostic.

En effet le tableau clinique de la maladie observée en 1920

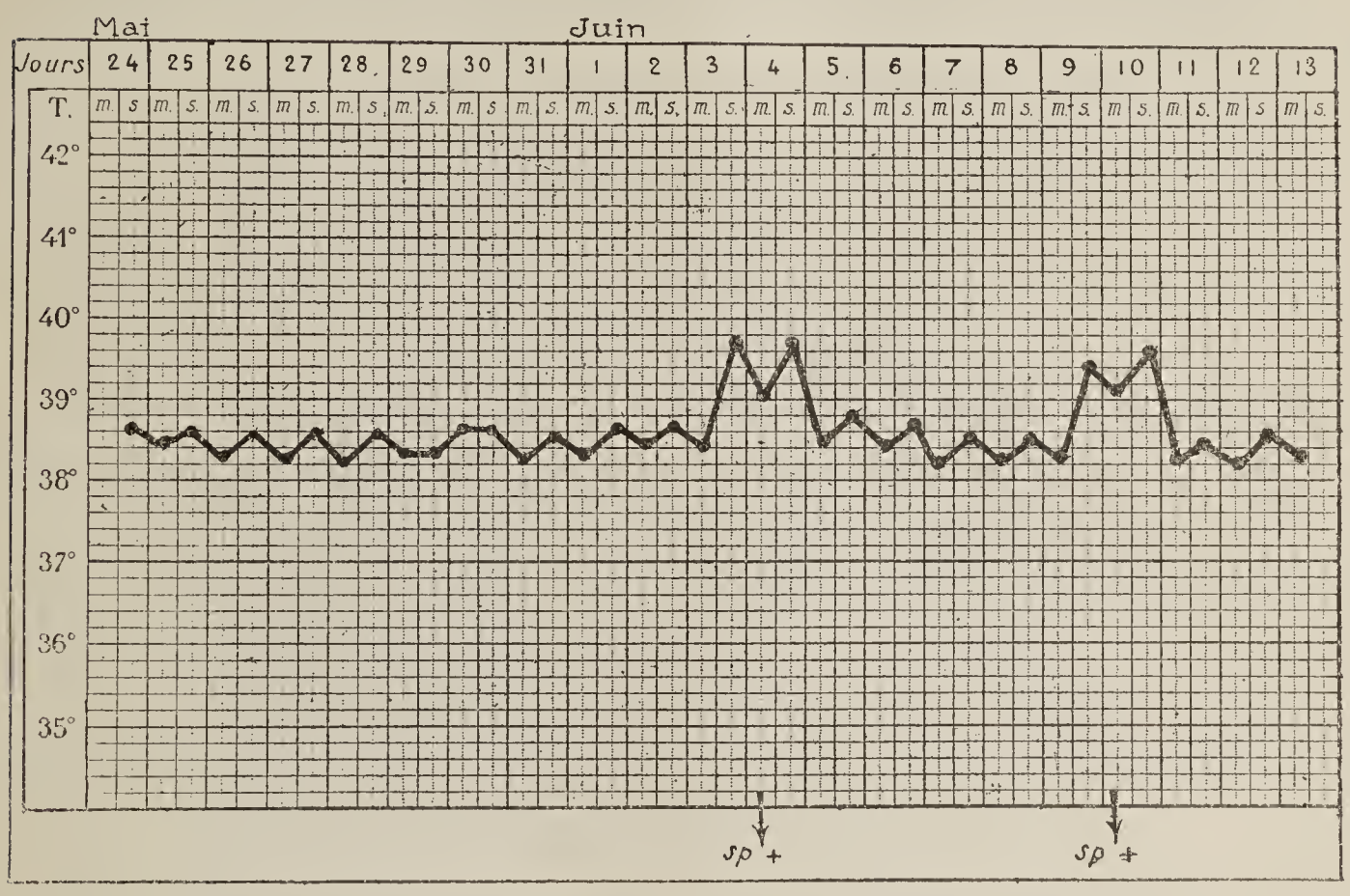


Fig. 3. — Lapin inoculé sous la peau avec deux Phlébotomes broyés.

et en 1921 rappelle point par point les descriptions classiques de la dengue.

Le début est brutal : soudainement, en pleine santé, le malade est terrassé par une céphalalgie violente, s'accompagnant de vives douleurs dans les membres et les articulations. Céphalée frontale, photophobie, douleurs du globe oculaire extrêmement pénibles. Les yeux sont injectés, la face fortement congestionnée. Le malade tombe, en quelques heures, dans un état de prostration intense. Ces symptômes s'accompagnent constamment d'un état gastrique prononcé, et il n'est pas rare que des vomissements marquent le début de l'attaque.

A la période de début, dans presque tous les cas, il existe

un exanthème pharyngien. Parfois on peut constater une éruption discrète.

Dès le premier jour, la *température*, par une ascension brusque, atteint et souvent dépasse 40°. Elle s'y maintient, sans grandes oscillations, pendant deux jours, pour descendre rapidement à la normale, en une défervescence ordinairement brusque.

Pendant la *période d'état*, les symptômes du début persistent;

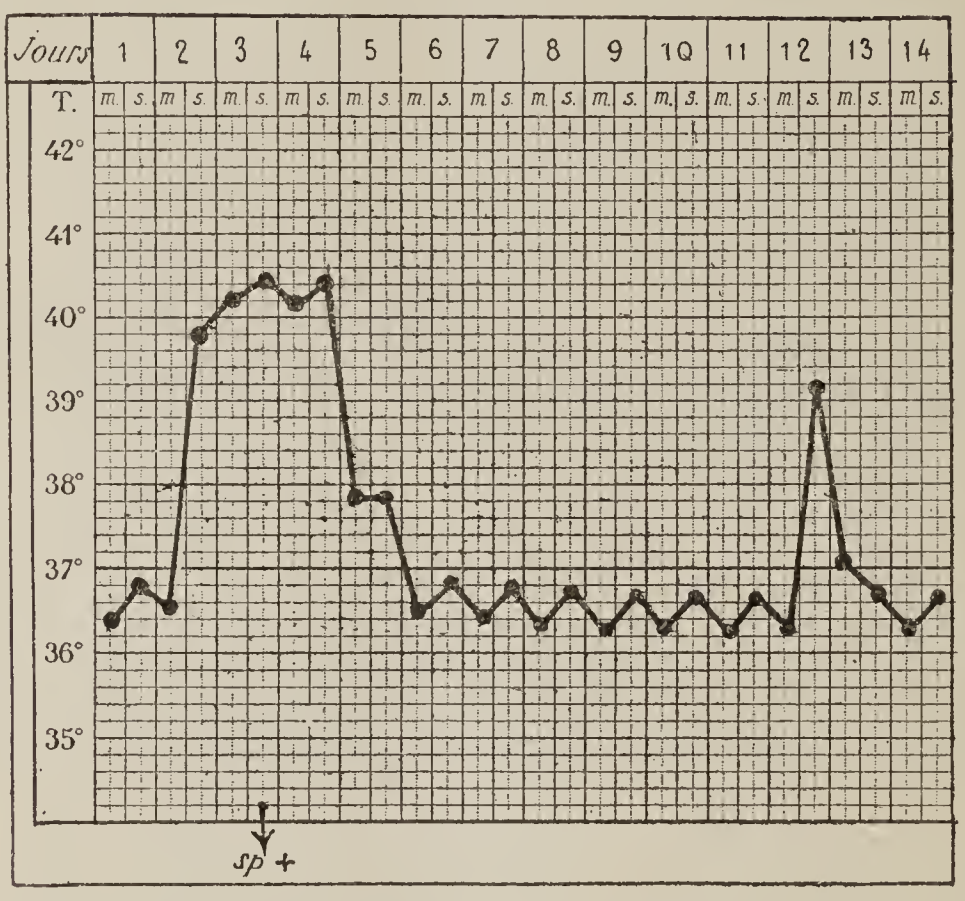


Fig. 4. — Courbe de température d'un cas de moyenne gravité.

les douleurs, plutôt musculaires qu'articulaires, sont des plus pénibles. L'abattement est extrême. Les malades se plaignent fréquemment d'une douleur épigastrique violente. La congestion des organes du petit bassin se traduit, chez la femme, par des règles d'une abondance telle que, dans certains cas l'hémorragie a pu être inquiétante (1). Il a été constaté un accouchement prématuré à sept mois et demi, qui semble ne pouvoir être rapporté qu'à cette cause. Les épistaxis sont fréquentes (fig. 4).

La chute, plus ou moins rapide, de la température s'accom-

(1) *Soc. de path. exotique*, octobre 1912, p. 447.

pagne fréquemment d'une crise de sueur ou de diurèse, puis tous les symptômes s'amendent rapidement. Seuls les troubles gastriques persistent.

Après une période d'apyrexie de cinq à sept jours, on assiste souvent à une rechute, avec température peu élevée, et qui pourrait même, parfois, passer inaperçue. Lorsque la rechute prend quelque intensité, il est bien rare qu'on ne remarque pas une éruption rappelant celle de la rougeole. Cette éruption peut être vue sur toutes les parties du corps, mais on l'observe le plus fréquemment aux mains, aux avant-bras et aux coudes où il est facile de la différencier des traces laissées par les piqûres des Phlébotomes. L'éruption roséolée est souvent extrêmement fugace ; parfois elle dure de deux à trois jours et se termine par une desquamation furfuracée.

Dans certains cas légers, le malade recouvre très rapidement la santé, aussitôt la défervescence obtenue. Mais le plus souvent la convalescence ne s'établit que lentement; l'anorexie, la dépression intellectuelle, l'asthénie persistent parfois pendant plusieurs semaines.

On a constaté une rechute nette, avec répétition des symptômes de la première atteinte, mais toujours atténués, à la *cinquième semaine*.

Mortalité nulle.

Une première atteinte semble conférer une certaine immunité, au moins pour une année : les personnes atteintes en 1920 ont, pour la plupart, échappé à l'épidémie de 1921.

La courbe de température ci-dessus est celle d'un cas de gravité moyenne.

Cette affection présente donc tous les caractères cliniques de la dengue.

CONCLUSIONS

Au cours de l'épidémie que nous avons eu l'occasion d'observer à Beyrouth en 1920 et en 1921, et qui présentait les caractéristiques cliniques de la *Dengue*, un spirochète fin a été trouvé dans le sang des malades au moment de la période fébrile, ou immédiatement avant son début.

Ce spirochète est inoculable au lapin.

Des Phlébotomes (*Phlebotomus pappatasii*) capturés en milieu épidémique, broyés et inoculés au lapin, communiquent à cet animal une maladie paraissant identique à celle observée chez l'homme.

LES SELS DE BISMUTH
DANS LE TRAITEMENT DE LA SYPHILIS

par le Dr ESCHER,
Médecin-major de 1re classe.

A l'heure actuelle, après une année d'observation, les sels de bismuth semblent définitivement avoir acquis leur place dans le traitement de la syphilis, mais comme l'ont fait observer nombre d'auteurs, la valeur intégrale d'une médication antisyphilitique ne peut vraiment être appréciée qu'avec l'expérience du temps, et c'est une raison pour que soient versés aux débats tous les documents susceptibles d'apporter une contribution, si modeste soit-elle, à l'œuvre commune. C'est dans cet esprit que nous publions ci-dessous le résultat de 60 observations de syphilis traitées avec le bismuth.

Nous tenons, au début de ce travail, à exprimer toute notre vive reconnaissance à M. le Dr Levaditi pour l'amabilité avec laquelle il a bien voulu nous documenter et faire mettre à notre disposition par les laboratoires Chenal et Douilhet les quantités de bismuth nécessaires à notre expérimentation (1).

Le sel de bismuth dont nous nous sommes servi pour ces 60 cas a été exclusivement le tartro-bismuthate de potassium et de sodium. Nous avons également d'autres observations de malades traités avec l'iodio-bismuthate « Quinby », des tartro-bismuthates solubles, etc., etc..., dont nous rapporterons ultérieurement les résultats dans un travail d'ensemble.

Disons de suite qu'à peu de chose près, avec les deux premières médications, les résultats observés ont été les mêmes (T. B. P. S. et iodo-bismuthate) mais il nous a semblé cependant que, pour des malades présentant des accidents en activité,

(1) Nous remercions également les laboratoires Chenal et Douilhet pour la libéralité avec laquelle ils nous ont fourni du Trepol et du Néo-Trepol, nous permettant ainsi de faire connaître cette découverte française parmi les médecins allemands.

le Trepol était, de tous les sels, celui qui, peut-être, agissait le plus rapidement.

Au point de vue des doses, nous avons tout d'abord suivi exactement les indications données : 3 cent. cubes, c'est-à-dire 30 centigr. tous les trois jours jusqu'à concurrence de 3 grammes ; mais ultérieurement, et pour des raisons que nous exposerons au cours de ce travail, nous avons abaissé la dose à 0 centigr. 20, soit 2 cent. cubes et augmenté l'intervalle qui, de trois, a été porté à quatre et cinq jours.

Nous considérons comme acquises les précautions d'usage pour les injections de sels insolubles en suspension huileuse ; la seule remarque que nous tenions à faire, c'est d'éviter avec soin le reflux, dans le tissu cellulaire sous-cutané, d'une partie de l'injection, ce qui s'obtient : 1° par l'usage d'une aiguille assez fine (7/10) et de longueur proportionnée au pannicule adipeux ; 2° par l'injection, à la fin, d'une grosse bulle d'air en retirant l'aiguille ; 3° par le repos complet des masses musculaires injectées.

Action thérapeutique.

Les 60 cas traités se répartissent en :

Syphilis primaire avec sérologie positive	10	cas.
Syphilis secondaire en activité	25	—
Syphilis secondaire latente à sérologie positive	15	—
Syphilis tertiaire en activité	3	—
Syphilis tertiaire latente	2	—
Syphilis nerveuse : tabes	4	—
Syphilis nerveuse : paralysie générale	1	—
Total	60	—

Syphilis primaire.

Action sur le tréponème. — Pour 8 cas on a recherché l'action sur le tréponème. Dans 4 cas il fut impossible de retrouver ce dernier après vingt-quatre heures, dans 3 cas après quarante-huit heures, dans un cas après cinquante-six heures suivant l'injection. En résumé, après quarante-huit heures en moyenne, il fut impossible de retrouver le tréponème à l'ultra et au Fontana et dans le seul cas où ce délai fut dépassé, les rares tréponèmes

visibles étaient privés de mouvement. Ce résultat fut obtenu avec une seule injection de 0 gr.30 de trepol, ancienne formule, ou 0 gr. 20 « formule indolore ».

Induration, adénopathie. — L'induration des ganglions satellites se résorbe rapidement et suivant la remarque déjà faite par Fournier et Guénot, confirmée par les recherches de notre confrère mayençais Muller, l'induration et l'adénopathie nous ont toujours paru *plus influencées par le bismuth que par n'importe quelle autre médication arsenicale, et, a fortiori, mercurielle.*

Dans 6 cas où nous avons pratiqué la ponction des ganglions huit à dix jours après le début du traitement, nous n'avons plus retrouvé de tréponèmes dans le suc ganglionnaire, alors que, chez d'autres malades traités avec le néo ou le néosilber, nous avons retrouvé des tréponèmes, quelquefois, jusqu'à quinze jours après le début du traitement.

Action sur le chancre. — La cicatrisation du chancre se montre rapide ; elle varie naturellement suivant son étendue et sa profondeur. Elle a évolué généralement entre huit et quinze jours et ceci, bien entendu, en l'absence de tout traitement local. Dans 2 cas de chancre mixte elle s'est prolongée durant trois semaines. Dans les cas de chancres érosifs typiques, on assiste, pour ainsi dire, de jour en jour au rétrécissement de la lésion par extension de la zone cicatricielle périphérique, tandis que le centre s'assèche.

Dans aucun cas, encore que quatre de nos malades aient commencé leur traitement entre le vingt-cinquième et le trente-cinquième jour après l'apparition du chancre, nous n'avons assisté à l'éclosion de phases secondaires telles que : roséole, plaques muqueuses.

Nous n'avons pas relevé, au niveau de la lésion initiale, de réaction d'Herxheimer.

Sérologie. — Sur ces 10 cas il y en eut 6 dont l'examen sérologique devint négatif à la fin de la première série de 12 injections, soit 3 gr. 60 (cinq semaines); deux autres cas le devinrent aussi à la fin de la deuxième série *et 2 autres cas dans la période de repos qui sépara la deuxième série de la troisième.*

Syphilis secondaire et secondo-tertiaire.

25 cas se répartissant en :

Syphilides maculeuses de la peau et érosives des muqueuses . . .	5 cas.
Syphilides papuleuses et papulo-érosives, cutanées et muqueuses. .	12 —
Syphilides papulo-croûteuses	2 —
Syphilides papulo-squameuses (dont un cas de syphilides papulo-miliaire et un cas de syphilides psoriasiforme).	5 —
Syphilides ulcéro-crustacées	1 —
Total	25 cas.

Efficacité thérapeutique. — Les accidents érosifs des muqueuses se sont montrés particulièrement sensibles à l'action du médicament. A partir du cinquième et sixième jour (2 injections) on assiste à la cicatrisation. Dans 3 cas où les tréponèmes ont été recherchés, nous avons observé leur disparition dans les trente-six heures qui ont suivi l'injection. Les plaques muqueuses hypertrophiques de l'anus ou de la région génitale se flétrissent et s'assèchent dès la deuxième injection (une semaine) et disparaissent dans un délai qui varie du huitième au quinzième jour (en moyenne dix).

La roséole subit presque toujours, dès la première injection, une réaction d'Herxheimer; à la deuxième injection elle pâlit et s'efface. Nous l'avons toujours vue disparaître après la troisième injection.

Les syphilides papuleuses s'affaissent, pâlissent et s'effacent après 3 ou 4 injections, soit, en général, dans la deuxième semaine qui suit le début du traitement par une dose de 0 gr. 60 à 0 gr. 80. On a constaté dans une proportion d'environ 20 p. 100 des cas une réaction d'Herxheimer au niveau des lésions cutanées.

Les syphilides papulo-croûteuses et papulo-squameuses ne nous ont pas paru plus résistantes. Nous les avons vues se déterger dès la deuxième ou troisième injection et disparaître entre le douzième et le vingtième jour, soit avec une dose de médicament entre 0 gr. 80 et 1 gr. 20.

Dans un cas de syphilides psoriasiformes et un cas de syphilides papulo-miliaires (lichen syphilitique), les accidents ont disparu totalement à la troisième semaine du traitement, et cependant ce sont, de toutes les syphilides cutanées, celles ré-

putées comme plus particulièrement résistantes au traitement. Notons que les macules, vestiges inévitables, momentanément du moins, de certaines syphilides papuleuses, papulo-croûteuses, squameuses, etc., ne nous ont pas paru, avec le traitement au bismuth, avoir cette fâcheuse tendance à la pigmentation que leur laisse trop souvent le traitement arsenical. Si le fait est confirmé par la suite, ce sera pour la clientèle féminine, croyons-nous, une chose fort appréciée.

Action sur la sérologie. — Au point de vue sérologique, ces 25 cas de syphilis secondaire ou secondo-tertiaire étaient tous au début : Hecht, Wassermann, Sachs-Georgi : positifs. 3 devinrent négatifs à la fin du premier traitement (3 grammes); 7 autres le devinrent à la fin du deuxième traitement ; *2 autres pendant le repos entre le deuxième et le troisième traitement*, et 7 à la fin du troisième traitement ou dans le mois qui suivit, *soit 76 p. 100.*

Syphilis secondaire latente à sérologie positive : 15 cas. 10 cas qui avaient tous été traités déjà par deux séries de néo ou de néo-silbersalvarsan avaient toujours eu une sérologie restant nettement positive (Hecht, Wassermann, Sachs-Georgi), et 5 présentaient une rechute sérologique (3 après 3 séries de novarsénobenzol et 2 après 4 séries).

Sur ces 15 cas, 8 devinrent négatifs après une série de néotrepol ou pendant la période de repos qui suivit, et 3 cas le devinrent après une deuxième série, soit au total *73,3 p. 100 de succès.*

Syphilis tertiaire.

Nombre de cas : 5 qui se répartissent en :

Syphilides tubéro-croûteuses.	1 cas.
Gomme du pharynx et du voile du palais.	2 —
Syphilis tertiaire latente à sérologie positive.	2 —

La détersion des lésions et leur cicatrisation ont oscillé entre trois et quatre semaines en tout; elle a dépendu comme toujours de la grandeur et de la profondeur des lésions, mais dès la troisième injection l'amélioration était visible et patente et

pouvait se suivre de jour en jour. Ici, action au moins égale à celle des meilleurs arsenicaux maniés à fortes doses.

Sérologie. — Sur ces 5 cas, dans 2 seulement nous avons obtenu la négativité après deux séries de trepol ou de néo-trepol. Signalons un cas concernant un sujet chez lequel quatre séries d'arsenicaux, néo et silbersalvarsan, n'avaient pas amené une modification de la sérologie.

Syphilis nerveuse.

5 cas ont été traités :

Tabes.	4 cas.
Paralysie générale au début	1 cas.

Tabes. — La médication a été remarquablement tolérée, ce qui est appréciable chez ces sortes de malades si délicats à traiter avec les arsenicaux, surtout en injections intraveineuses.

Aucun d'eux n'a signalé de symptômes de malaises ou de douleurs vraiment dignes d'être pris en considération. Au point de vue des résultats cliniques, il nous est très difficile d'avoir autre chose à rapporter qu'une impression personnelle favorable, car tous les malades avaient déjà été traités par les arsenicaux et se trouvaient en bonne voie d'amélioration. Cependant, notons que cette dernière a continué à progresser et que le terrain acquis (sous forme de diminution de l'incoordination, de disparition d'incontinence urinaire ou fécale, de diminution des douleurs, etc.) a paru se stabiliser et se consolider. Mais on ne saurait, en matière nerveuse, être trop prudent dans ses conclusions.

Paralysie générale. — Le cas de paralysie générale ne nous a rien donné jusqu'ici (deuxième traitement); notons simplement que la maladie n'a pas paru progresser.

Au point de vue sérologique : nous signalerons que dans 2 cas de tabes, la sérologie qui s'était toujours maintenue fortement positive (W. H. S. G. ++++) a paru s'améliorer : H. ++ W. S. G. + léger, après deux traitements au néotrepol.

Au point de vue *liquide céphalo-rachidien*, nous n'avons aucune observation à présenter pour l'instant, étant donné que ces 5 cas traités ont commencé à l'être par des séries arsenicales et que les ponctions étant toujours un peu désagréables pour les malades, on ne peut les multiplier après chaque deux ou trois traitements, afin de constater les résultats obtenus.

En plus de ces 60 cas, nous avons également à signaler comme intéressantes à l'actif des sels de bismuth les deux observations suivantes :

I. **Syphilis maligne.** — B..., vingt ans, syphilides profuses à type ecthymateux, survenues, sans doute, trois mois après un chancre amygdalien méconnu. Plaques muqueuses abondantes des lèvres, de la langue et du pharynx, plaques muqueuses hypertrophiques, anales; forte alopécie. Réaction ganglionnaire nulle. Très mauvais état général, amaigrissement de 10 kilogrammes, fièvre vespérale, céphalée violente à exacerbation nocturne, douleurs ostéocopes, sérologie négative.

Traitement par l'iodo-bismuthate, 0 gr. 30 tous les trois jours, légère réaction d'Herxheimer après la première injection. Dès la troisième (0 gr. 90) les lésions muqueuses disparaissent, les syphilides de la peau commencent à se déterger et les croûtes à tomber; la fièvre s'est éteinte à la deuxième injection, la céphalée également. Après la septième injection toutes les lésions sont décapées, laissant des cicatrices roses. Sérologie devenue fortement positive à la troisième piqûre. Après la douzième piqûre, soit 3 gr. 60, la sérologie était encore :

H.	+	et trois semaines après :		H.	—
W.	+++	—	—	W.	—
S. G. . . .	+++	—	—	S. G. . . .	—

Le malade avait engraissé en six semaines de 12 kilogrammes.

II. **Syphilis intolérante au mercure et à l'arsenic.** — H..., vingt-trois ans, malade évacué de Haute-Silésie. Syphilis secondaire traitée par huit injections intramusculaires de bi-iodure ayant entraîné une érythrodermie à type exfoliant généralisé. Après amélioration de cette dernière, on essaie avec prudence les arsenicaux; malgré toutes les précautions d'usage, l'arsénobenzol, dès 0 gr. 15, donne immédiatement des phénomènes d'intolérance : céphalée, fièvre 39°5, état nauséeux et poussées d'érythrodermie. On tâte la tolérance au néosilber, elle n'est pas meilleure; cependant il était nécessaire d'agir, car le malade avait des accidents muqueux et un état général des plus médiocres; on essaie alors avec prudence les sels de bismuth (trepol); ce dernier est très bien supporté; même ensuite aux doses ordinaires, aucune réaction cutanée ou générale. Les accidents syphilitiques muqueux disparaissent dans les délais normaux et la sérologie qui était restée positive après un premier traitement, 3 grammes, est devenue négative à la fin du deuxième traitement.

Incidents, inconvénients et complications.

Douleurs. — Etaient fréquentes avec le trepol première formule et parfois devenaient même intolérables, chez certains sujets. Avec le trepol indolore, c'est un phénomène qui est devenu très rare ; le néo-trepol, par contre, semble chez nombre de sujets être plus douloureux que le trepol. Les phénomènes douloureux sont du reste très variables. Sur un même sujet, une injection est douloureuse alors que les précédentes ne l'étaient pas et que les suivantes ne le seront plus ; il semble qu'il y ait là une sorte d'accoutumance qui se fasse et, s'il y a douleur, ce sont les deux ou trois premières injections de néo-trepol dont les malades se plaignent surtout. Dans un seul cas nous avons dû interrompre la médication chez un sujet, il est vrai, très nerveux, pusillanime, chez qui chaque injection de 1 cent. cube de bi-métal déterminait un gonflement volumineux de la fesse avec douleur très vive, s'irradiant le long du sciatique et rendant la marche impossible durant quarante-huit heures. Le tout accompagné d'une sensation de courbature générale avec léger train de fièvre 38°.

Tolérance des tissus, élimination a l'écran. — La tolérance des tissus au T. B. P. S. ou au néo-trepol nouvelle formule a toujours été excellente.

Nous avons eu l'idée de rechercher à l'écran et à la radiographie la durée de visibilité d'une injection. Dans trois cas où les injections furent pratiquées à la fesse, les résultats n'ont pas été très démonstratifs à cause de la mauvaise visibilité des masses musculaires de la région. Dans 3 autres cas, l'injection fut faite, avec le consentement des malades, à la face externe de la cuisse, partie moyenne (notons en passant que ces injections ont été parfaitement tolérées et n'ont pas gêné davantage les malades que celles pratiquées à la fesse). Il ressort de ces recherches qu'après soixante-douze heures il nous a toujours été impossible de repérer une trace d'ombre nette à l'endroit injecté, alors que l'injection pratiquée sous écran fait une tache très visible.

Le Dr Muller a entrepris des recherches anatomo-patholo-

giques pour se rendre compte de la façon dont les tissus musculaires réagissent à l'injection de bismuth ; les résultats actuels, qui seront publiés ultérieurement, mais dont il nous a donné connaissance, confirment ce que dit l'écran : le bismuth, au bout de quarante-huit à soixante-douze heures, est diffusé à travers les fibres musculaires, sans aucune réaction ou inflammation de ces derniers et sans aucune tendance à l'enkystement, contrairement à ce qui se passe pour l'huile grise par exemple.

Accidents buccaux. — Se sont manifestés dans nos cas sous trois formes :

1° Le liséré gingival ;
2° Les taches buccales ;
3° Les stomatites.

1° *Liséré.* — Peu ou prou, est apparu dans 80 p. 100 des cas, et nous pourrions même dire dans 100 p. 100, si nous retenions comme liséré quelques piquetés ardoisés entourant le collet d'une ou deux dents. Lorsqu'il est prononcé, il consiste en une ligne sertissant presque toutes les dents au niveau du rebord gingival.

Il est assez précoce et, dès la troisième ou quatrième injection, il apparaît discrètement au niveau des deux incisives médianes inférieures ou encore autour des dents malades. La persistance de ce liséré est assez grande, car nous l'avons vu très net encore chez des malades deux mois après la cessation du traitement. Il ne nous a pas paru que ce liséré, lorsqu'il est discret, fût un signal alarmant, ni que les soins dentaires très suivis puissent l'empêcher d'apparaître.

2° *Les taches.* — Consistent en taches de grandeur variable, à bords peu nets, dépassant rarement la grandeur d'une lentille ou d'un pain à cacheter, de teinte grise ardoisée et siégeant au niveau des gencives ou à la face interne des joues où elles sont cependant beaucoup plus rares. Nous ne les avons notées que chez une dizaine de nos malades au début de nos essais, c'est-à-dire alors que nous donnions une dose de 0 gr. 30 tous les trois jours, et nous relevâmes également à cette époque une congestion de teinte violacée sombre, à reflet ardoisé, de toutes les gencives. Ce dernier fait a été signalé par Lévy-Bing dans les

Annales des maladies vénériennes (mars 1922, page 177) et il nous a semblé, comme à cet auteur, que ces taches indiquaient un stade plus avancé d'imprégnation bismuthique.

3° *Stomatite.* — A été rarement notée par nous, puisque nous ne l'avons vue survenir que dans 2 cas. Peut-être est-ce dû à l'observation rigoureuse de nos prescriptions relatives à l'hygiène de la bouche reproduites ci-dessous :

1° Savonnage soigneux des dents le soir et le matin ;

2° Plusieurs fois par jour se rincer la bouche avec un verre contenant 1/3 de solution chloratée à 40/1.000 et 2/3 d'eau bouillie additionnée d'une cuillerée à bouche d'eau oxygénée à 12 volumes ;

3° Attouchements bi-quotidiens de la sertissure des dents avec un petit tampon de coton monté et trempé dans :

Alcoolat de cochlearia	ââ 10 gr.
— de romarin	
— d'iode à 1/20	

Quoi qu'il en soit, chez les deux malades, elle débuta brusquement et sans autre signe prémonitoire qu'un liséré, sans exagération chez un malade, et chez l'autre cette congestion des gencives signalée plus haut. Elle consista dans les deux cas en points d'attaques multiples autour des deux dernières molaires de chaque côté, avec ulcération à bords déchiquetés de la muqueuse gingivale et de la face interne de la joue, s'étendant jusque sur les branches montantes du maxillaire. Ces ulcérations, saignantes au moindre attouchement, étaient recouvertes d'un enduit pultacé où le microscope décela une association fuso-spirillaire ; chez ces deux malades, léger trismus, gonflement des ganglions sous-maxillaires, et chez l'un d'eux seulement, haleine fétide. *Contrairement à d'autres auteurs, nous n'avons pas remarqué que ces malades eussent une dentition en mauvais état.*

Chez ces deux malades les doses de bismuth étaient encore celles que nous donnions au début, c'est-à-dire 0,30 tous les trois jours. Dans un cas la stomatite est apparue après la septième injection et dans l'autre après la neuvième. Disons tout de suite que cette complication a été sans gravité ; en quarante-huit heures, elle a cédé à des lavages avec solution antiseptique

et à deux attouchements par jour à la poudre de néo. *Depuis que nous avons diminué les doses et espacé les injections, nous n'avons plus vu survenir de stomatites.*

Albuminurie. — Comme Fournier et Guénot, nous avons constaté chez nos malades de la polyurie, ainsi que la coloration noire des urines vingt-quatre heures après leur émission, preuve de l'élimination intense du médicament par le rein. Chez 9 malades nous avons constaté de l'albuminurie. Dans 5 cas sous forme de traces légères survenant à la septième ou huitième injection. Ce symptôme a, du reste, rapidement cédé à la diminution des doses, à leur espacement et au régime lacto-végétarien. Dans 4 cas néanmoins, cette albuminurie a été prononcée, s'élevant entre 1 gramme et 3 grammes, et persistant malgré la cessation du traitement.

Pour deux malades, l'albuminurie, qui ne s'est déclarée qu'à la fin d'un premier et d'un deuxième traitement, persiste encore deux mois après la dernière piqûre à raison de 0,15 pour 1 cas et de traces pour l'autre (1).

Le chiffre de 15 p. 100, relevé par nous, nous paraît assez élevé. Peut-être, et nous le croyons fermement, est-il dû à notre manière de faire du début et aux doses trop élevées de médicament que nous injections alors; car depuis que nous avons diminué les doses et espacé les piqûres, nous n'avons plus vu l'albuminurie se produire que sous formes de traces légères, indosables et passagères. Le Dr Muller qui, dans ses essais, n'a jamais dépassé 0,20 tous les cinq jours, n'a jamais eu aucune alerte par albuminurie.

Quoi qu'il en soit, la constante d'Ambard et l'épreuve au bleu de méthylène chez les malades cités plus haut et ayant présenté de l'albuminurie persistante, nous ont montré un rythme d'élimination normale, ce qui prouve heureusement une atteinte peu profonde de la fonction rénale. Néanmoins, cette albuminurie nous paraît être le point le plus sérieux sur lequel doit porter l'attention des médecins traitants durant les cures bismuthiques. Nous avons du reste l'habitude d'examiner systématiquement les urines avant chaque injection et dans le

(1) Au moment de la correction de ces épreuves, ces deux malades ne présentent plus trace d'albumine dans les urines.

courant de la semaine qui suit l'injection, lorsque ces dernières sont espacées de six jours.

Au dernier Congrès de dermatologie de Francfort, le privat-docent Felke, premier assistant du professeur Friboes, de l'Université de Rostock, indiquait comme symptôme « signal d'alarme » la présence dans les sédiments urinaires de conglomérats de cellules épithéliales rénales. Il a donc proposé, afin de prévenir l'albuminurie, l'examen systématique et fréquent des sédiments urinaires chez les malades en traitement par le bismuth ; c'est ce que nous comptons faire à l'avenir.

Fièvre asthénie. — Chez 15 p. 100 de nos malades nous avons noté un léger mouvement fébrile apparaissant en général après la deuxième ou troisième injection de bismuth. Parfois également, une injection au cours du traitement donne un léger train fébrile sans qu'on pût en deviner la cause. Cette fièvre passagère n'a jamais duré plus de quarante-huit heures et n'a jamais dépassé 38°5 (rectale). Lorsqu'elle accompagne les premières injections, elle nous paraît devoir être imputée à une réaction d'Herxheimer, que nous avons notée dans 20 p. 100 des cas, légère il est vrai, au niveau des lésions secondaires. Chez deux sujets nous avons observé une asthénie profonde, inquiétante même, puisqu'elle s'accompagnait d'amaigrissement très prononcé. Dans un cas : 11 kilogrammes en un mois chez un sujet de 65 kilogrammes. Ce cas nous avait même vivement impressionnés, car c'était un des premiers sujets traités et il avait reçu 0,30 de trepol tous les trois jours, en tout 3 gr. 60.

Cette asthénie nous paraît être due à une susceptibilité particulière aux tartrates de soude et de potasse, fait du reste bien connu antérieurement. Elle nous a semblé en effet trop rare pour ne pas être rapportée à cette cause et nous ne l'avons jamais observée avec les traitements entrepris avec d'autres sels de bismuth tels que l'iodo-bismuth ou le bi-métal.

Amaigrissement et asthénie n'ont eu, en tout cas, chez nos malades aucune suite fâcheuse et, dès la première semaine après la cessation du traitement, l'appétit revint ainsi que le relèvement du poids et des forces. En six semaines les malades avaient récupéré leur poids primitif et leur état était redevenu normal.

CONCLUSIONS

Les faits énoncés plus haut nous donnent l'impression que *le bismuth, et en particulier les tartro-bismuthates de potassium et de sodium, sont une précieuse acquisition dans le traitement de la syphilis à toutes ses périodes.* Son action sur les accidents en activité, primaires, secondaires ou tertiaires, nous a paru ne le céder en rien à l'activité brillante des arsenicaux, voire le silbersalvarsan qui, à juste titre, est considéré en Allemagne comme plus actif que le néo.

Chez aucun de nos malades traités nous n'avons vu survenir de récidives cliniques. Il est vrai de dire que nos malades restent soumis à des traitements *réguliers* et *suivis.* Toutefois jadis, avec le mercure, même ainsi conduit, de telles récidives n'étaient pas rares.

Au point de vue sérologique, nos expériences sont également favorables sans que nous puissions, étant donné le petit nombre de cas et le peu de temps écoulé, établir encore un parallèle avec l'action des arsenicaux. Il semble bien acquis cependant que l'action des sels de bismuth sur la sérologie est aussi active que celle des arsenicaux *et qu'en plus elle continue à s'exercer alors que le malade n'est plus traité* ; ceci est dû à la réaction plus lente du médicament et à sa persistance dans l'organisme du sujet. Nous avons signalé ce fait aux paragraphes relatifs à la sérologie et nos observations confirment la conclusion de Levaditi : « le malade continue à se traiter alors que depuis longtemps le médecin a cessé tout traitement chez lui ».

Notre collègue le Dr Muller, avec lequel nous avons une collaboration constante, a relevé dans un certain nombre de cas des récidives sérologiques après l'emploi du bismuth ; cela n'a rien qui puisse nous étonner, car, avec les meilleurs sels arsenicaux, et dans des syphilis secondaires particulièrement, les récidives sérologiques sont la règle ; ce n'est qu'avec le temps et avec une médication soutenue qu'on peut espérer sans doute arriver à une négativité persistante.

La posologie des sels de bismuth n'est pas encore parfaitement réglée ; elle tend à le devenir et je signale que les Allemands ont entrepris une série de recherches sur la toxicité, le

rythme et les différentes voies d'élimination des sels de bismuth, recherches qui seront très intéressantes et qui éclaireront encore la question de posologie.

Il nous semble certain que les doses préconisées au début furent beaucoup trop élevées et furent cause de la plupart des accidents relevés : stomatites, albuminurie. 0 gr. 20 tous les quatre ou cinq jours nous paraissent suffisants pour le trepol ou le néo-trepol dans les accidents en évolution. 0 gr. 20 de trepol ou néo-trepol tous les sept jours nous paraît une dose favorable pour des syphilis latentes dont on recherche la négativité de la sérologie.

De tous les accidents dus au traitement par les sels de bismuth, l'albuminurie nous paraît seule, pour l'instant, à retenir et à surveiller.

ESSAIS D'INOCULATION AUX SOURIS BLANCHES DU LATEX PARASITÉ DE DIFFÉRENTES ESPÈCES D'EUPHORBES

par G. FRANCHINI.

(Travail du Laboratoire du professeur A. Laveran à l'Institut Pasteur.)

Nous avons déjà mentionné dans une note précédente (1), les résultats obtenus en inoculant dans le péritoine deux souris blanches avec du latex parasité de *Euphorbia nereifolia* et nous avons relaté dans une deuxième note les premières expériences d'inoculation aux souris blanches des trypanosomes des *euphorbes* (2). Ayant poursuivi ces expériences, nous désirons exposer en détail leurs résultats. Sur une trentaine de souris inoculées, quelques-unes seulement ont montré de rares parasites à l'examen du sang périphérique. Ce sont ces souris que nous avons sacrifiées au bout d'une période de temps qui a varié d'un mois et demi à deux mois et demi.

Expériences sur les souris.

Expérience I. — Le 24 février 1922, deux souris ont été inoculées dans le péritoine avec du latex de *Elæophorbia drupifera* contenant de petits trypanosomes. Une souris meurt presque tout de suite après l'inoculation; l'autre, après deux ou trois jours de maladie, revient à la santé. L'examen du sang périphérique est négatif le 26 février et le 1er mars. Le 20 avril, on voit un petit parasite rond, libre. La souris est sacrifiée en bon état le 20 mai 1922. La rate est augmentée de volume. Frottis du sang du cœur, du foie et de la moelle osseuse, négatifs. Frottis de la rate : quelques rares parasites leishmaniformes libres ou avec un noyau seulement. On n'a pas fait de cultures.

Expérience II. — **Souris** n° 3, poids, 12 grammes, inoculée dans le péritoine le 24 février 1922, avec du latex de *Exœcaria emarginata* contenant des parasites ayant l'aspect de trypanosomes et quelques amibes. La souris

(1) A. Laveran et G. Franchini. *Bull. Soc. Path. exotique*, n° 10, séance du 8 décembre 1920.

(2) S. Franchini. *Bull. Soc. Path. exotique*, n° 4, séance du 12 avril 1922.

n'est pas malade après l'inoculation. Frottis du sang périphérique le 26 février 1922. Vu un trypanosome. 1er mars et le 15 avril, parasites rares endoglobulaires avec noyau seulement ou avec noyau et centrosome. Les formes libres sont très rares. La souris est sacrifiée en bon état le 23 mai 1922. Poids, 24 grammes. Le foie est gros. La rate, augmentée de volume et à surface granuleuse, pèse 18 centigrammes. Frottis sang du cœur : parasites

Fig. 1. — Parasites des frottis du sang et des organes des souris inoculées avec du latex des différentes Euphorbes. Souris 3 : *a*, parasites du sang; *a'*, parasites de la rate. — Souris 4 : *b*, parasites du sang ; *b'*, parasites du foie. — Souris 5 : *c*, parasites du sang; *c'*, parasites du foie ; *c''*, parasites de la rate. — Souris 6 : *d*, parasites du sang ; *d'*, parasites de la rate ; *d''*, parasites du poumon. — Souris 7 : *e*, parasites du foie ; *e'*, parasites de la moelle osseuse. — Souris 8 : *f*, parasites du sang du cœur; *f'*, parasites de la rate ; *f''*, parasites de la moelle. — Gross. 900 D. environ.

endoglobulaires très rares. Foie négatif. Rate (fig. 1). Parasites non rares leishmaniformes ou allongés, parfois avec un court flagelle. Quelques trypanosomes petits ou assez gros. Rares formes ayant l'aspect d'amibes. Moelle osseuse et poumons négatifs. Le 23 mai, on a ensemencé une plaque Nöller avec le sang du cœur, une deuxième avec le sang du foie et une troisième avec le sang de la rate. Les plaques ont été conservées à la température de 23°.

Examen des cultures le 30 mai. Les trois plaques ont poussé. A l'examen à l'état frais, on voit des amibes, des formes allongées, quelques trypanosomes petits ou moyens et de petits parasites leishmaniformes. Les para-

sites sont surtout nombreux dans la culture de la rate où on peut en voir des amas à l'état frais dans le même champ microscopique. Une partie des parasites sont mobiles, avec des mouvements amiboïdes accentués et rapides. Quelques formes rondes ou ovalaires sont munies d'un flagelle. La morphologie des parasites ressemble à celle précédemment décrite à propos des trypanosomes et des amibes des plantes à latex (1). Les formes

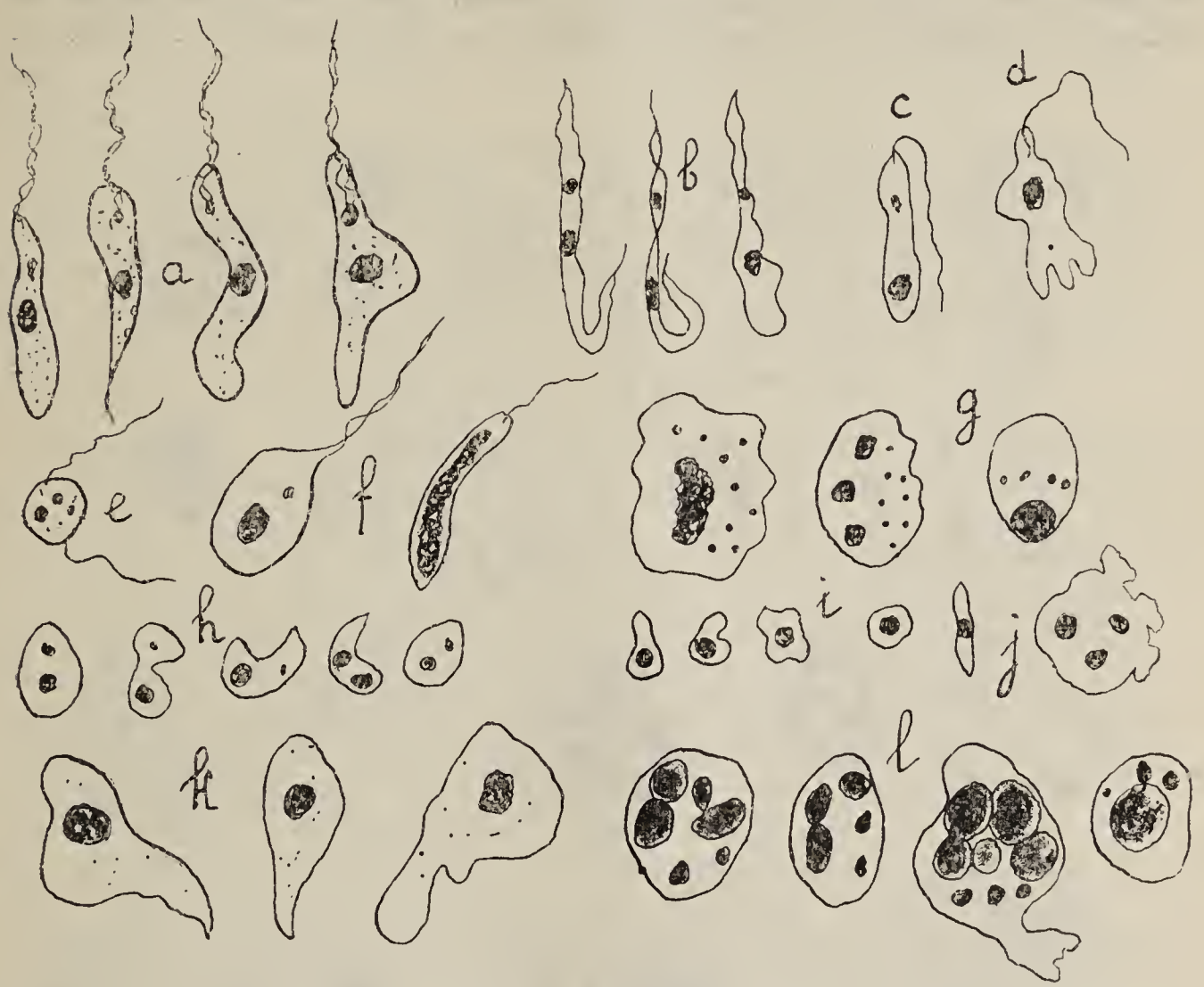


Fig. 2. — Parasites des cultures plaque Nöller. Etat frais : *a*, flagellé ayant des mouvements amiboïdes; 4 stades du même parasite ; *b*, 3 stades différents du même parasite ; *c*, parasite flagellé ; *d*, parasite flagellé ayant des mouvements amiboïdes-; émission des pseudopodes; *e*, parasite, avec deux flagelles ayant des grains noirs dans le protoptasma; *f*, flagellés; *g*, parasites ayant des grains noirs dans le protoplasma; *h*, petit parasite ayant des mouvements amiboïdes; 5 différents stades du même parasite; *i*, petit parasite ayant des mouvements amiboïdes, 5 différents stades du même parasite; *j*, gros parasite ayant des mouvements amiboïdes avec trois bourgeons extérieurs; *k*, 3 différents stades de la même amibe; *l*, quatre parasites ayant phagocyté des globules rouges. Gross. 900 D. environ.

enkystées ne sont pas très rares et la multiplication d'une partie des parasites s'accomplit par *schizogonie*.

Expérience III. — **Souris** n° 4, poids, 17 grammes, inoculée dans le péritoine le 3 mars 1922 avec du latex de *Elæophorbia drupifera* contenant de très

(1) G. Franchini. *Bull. Soc. Path. exotique*, séance du 11 janvier 1922.

petits trypanosomes non rares. Examen du sang périphérique le 5 mars. Formes anaplasmiques; le 20 mars et le 2 avril, parasites leishmaniformes ou avec noyau seulement très rares ainsi que le 1er mai. La souris est sacrifiée en bon état le 29 mai 1922. Poids de la souris, 24 grammes. La rate, augmentée de volume, pèse 20 centigrammes. Frottis du sang du cœur : parasites rares endoglobulaires avec noyau seulement; vu un parasite endoglobulaire ayant l'aspect d'un petit trypanosome. Foie : parasites allongés et même très allongés sans flagelles, très rares. Rate : parasites très rares,

Fig. 3. — Parasites des cultures plaque Nöller. Frottis colorés : *a*, formes flagellées; *b*, parasites ayant des mouvements amiboïdes à l'état frais; *c*, petits parasites leishmaniformes ou avec noyau seulement; *d*, petits trypanosomes; *e*, trypanosome ayant phagocyté (?) un globule rouge; *f*, parasites ayant des grains noirs dans le protoplasma; *g*, amibes ayant plusieurs noyaux; *h*, amibes allongées dont une en voie de division; *i*, amibes ayant phagocyté des globules rouges. Gross. 900 D. environ.

petits, avec noyau seulement ou avec noyau et centrosome. Trypanosomes petits extrêmement rares. Moelle osseuse et poumons négatifs. Le sang du cœur, du foie et de la rate a été ensemencé sur plaque Nöller le 29 mai 1922. Examen à l'état frais le 5 juin 1922. Celle qui avait été ensemencée avec le sang du cœur a montré de petits protozoaires très rares. La deuxième ensemencée avec le sang du foie a montré des protozaires de toutes dimensions assez nombreux. Les formes courbées en U ne sont pas rares; cer-

taines amibes contiennent un ou deux globules rouges dans le protoplasma, et d'autres protozoaires, à mouvements amiboïdes très accentués, présentent des grains tout à fait noirs ressemblant à de la mélanine. Les mouvements amiboïdes de certaines formes sont très accentués et rapides. La culture du sang de la rate a montré au microscope un grand nombre de protozoaires petits, ovalaires ou ronds, leishmaniformes, et d'autres, un peu plus gros, avec un ou plusieurs noyaux. Dans le même champ microscopique, parfois, on pouvait voir une centaine de parasites et même plus (fig. 2). Les protozoaires poussent, en général, comme nous l'avons dit autrefois, dans l'épaisseur du milieu.

Frottis colorés. — Des frottis colorés de la culture du foie nous ont montré de petits parasites, d'autres ayant l'aspect d'amibes avec quelquefois des globules rouges inclus et de rares formes crithidiennes ou trypanosomiques avec un flagelle bien net. Un deuxième examen des cultures à l'état frais, fait le 16 juin, c'est-à-dire au bout de dix-huit jours, nous a montré que les parasites sont encore plus nombreux qu'au premier examen. Les formes enkystées ne sont pas rares (fig. 3).

Expérience IV. — **Souris** n° 5, poids 10 grammes, inoculée le 11 avril 1922, avec du latex d'*Euphorbe inconnue* (1) qui contenait de tout petits trypanosomes non rares, très souvent courbés ou fermés en bague. L'examen du sang périphérique, fait à différentes reprises, n'avait montré qu'une fois de très rares parasites libres avec noyau seulement ou avec noyau et centrosome. La souris est sacrifiée en bon état le 31 mai 1922. Poids, 22 grammes. Rate augmentée de volume : 15 centigrammes. Frottis, sang du cœur : parasites très rares, ronds, leishmaniformes. Foie : parasites très rares, ronds, leishmaniformes et avec, en plus, deux ou trois petits trypanosomes. Rate : très rares parasites avec noyau seulement, très rares trypanosomes. Moelle osseuse. Examen négatif. Poumons : petits parasites libres, non rares, avec noyau ou avec noyau et centrosome. On a ensemencé le sang du cœur, du foie et de la rate sur des plaques de Nöller. L'examen des cultures, le 7 juin 1922, a donné les mêmes résultats que chez la souris n° 4. Le sang de la rate surtout a donné de riches cultures. Les petites formes à mouvements amiboïdes sont nombreuses et nous avons pu voir quelques formes crithidiennes avec des mouvements amiboïdes.

Expérience V. — **Souris** n° 6, poids 18 grammes, inoculée dans le péritoine le 13 avril 1922 avec une belle culture de *Elæophorbia drupifera* (repiquage de un mois environ sur plaque Nöller). L'examen des frottis du sang périphérique, fait à différentes reprises, n'avait montré que deux fois seulement de très rares parasites ronds ou ovalaires libres, avec noyau ou centrosome ou sans centrosome. La souris est sacrifiée non malade le 3 juin 1922. Poids du corps : 24 grammes. La rate augmentée de volume pèse 19 centigrammes. Le foie est gros. Examen des frottis. Sang du cœur : parasites très rares endoglobulaires avec le noyau seulement. Vu un petit trypanosome libre et un gros parasite ayant l'aspect d'une amibe. Foie négatif. Rate : quelques parasites ayant l'aspect de petits trypanosomes et quelques parasites leishmaniformes. Moelle osseuse. Parasites très rares avec noyau seulement ou avec noyau et centrosome. Poumons : nous n'avons vu que deux parasites leishmaniformes. Avec le sang du cœur, on a ensemencé le 3 juin

(1) Il s'agit d'une euphorbe exotique qui n'a pas pu être déterminée.

une plaque Nöller et une deuxième et une troisième avec le sang du foie et de la rate. Examen des cultures le 10 juin 1922.

Examen de la plaque ensemencée avec le sang du cœur : à l'état frais on voit des parasites de différentes dimensions, dont certains ont des mouvements amiboïdes très vifs. Il y a des formes avec un ou plusieurs noyaux, et quelques formes enkystées. Parfois nous avons vu dans le protoplasma quelques globules rouges. L'examen de la plaque ensemencée avec le sang du foie a donné les mêmes résultats. Les parasites y sont nombreux et plus

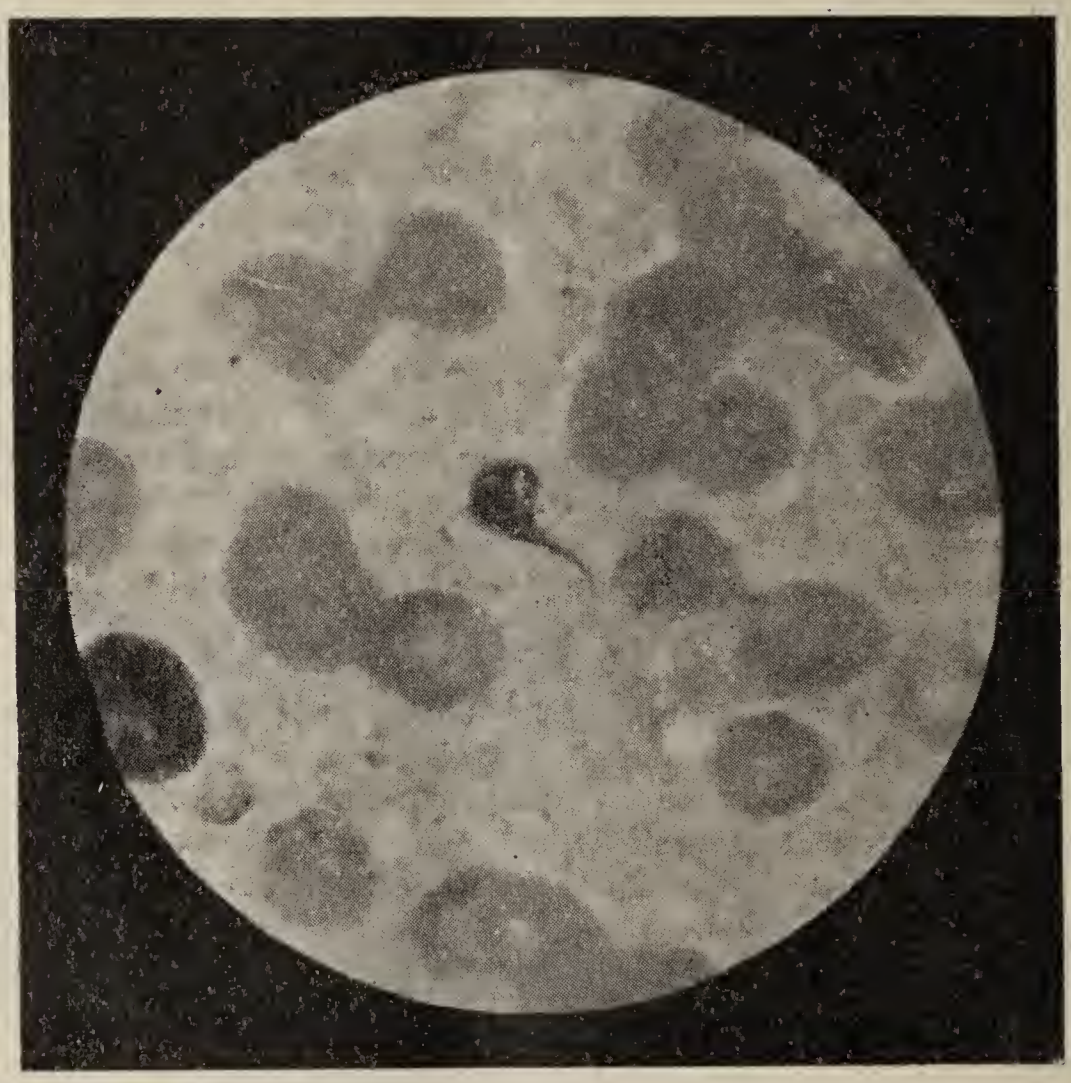


Fig. 4. — Souris inoculée avec le latex d'euphorbes. Sang. Cœur. Trypanosome. Microphotographie. Gross. 1.400 D. environ.

nombreux encore dans la plaque ensemencée avec le sang de la rate. Les cultures sont pures.

Expérience VI. — **Souris** n° 7, inoculée le 18 avril avec une belle culture sur plaque Nöller de sept jours, du latex de *E. nereifolia*. Examen du sang fait à plusieurs reprises : très rares parasites endoglobulaires ou libres, ronds ou courbés en U avec noyau ou avec noyau et centrosome. La souris est sacrifiée non malade le 6 juin 1922. Poids : 22 grammes. La rate, très augmentée de volume, pèse 30 centigrammes. Avec le sang du cœur, du foie et de la rate, on ensemence des plaques Nöller. *Examen des frottis*. Sang du cœur : rien vu de particulier. Foie : rares formes ayant l'aspect de trypanosomes, parfois courbés et rares parasites ronds ou ovalaires, souvent avec noyau seulement ; quelques parasites ont le contour plissé (formes à mouve-

Fig. 6. — Petit trypanosome. Rate. Microphotographie. Gross. 1.400 D. environ.

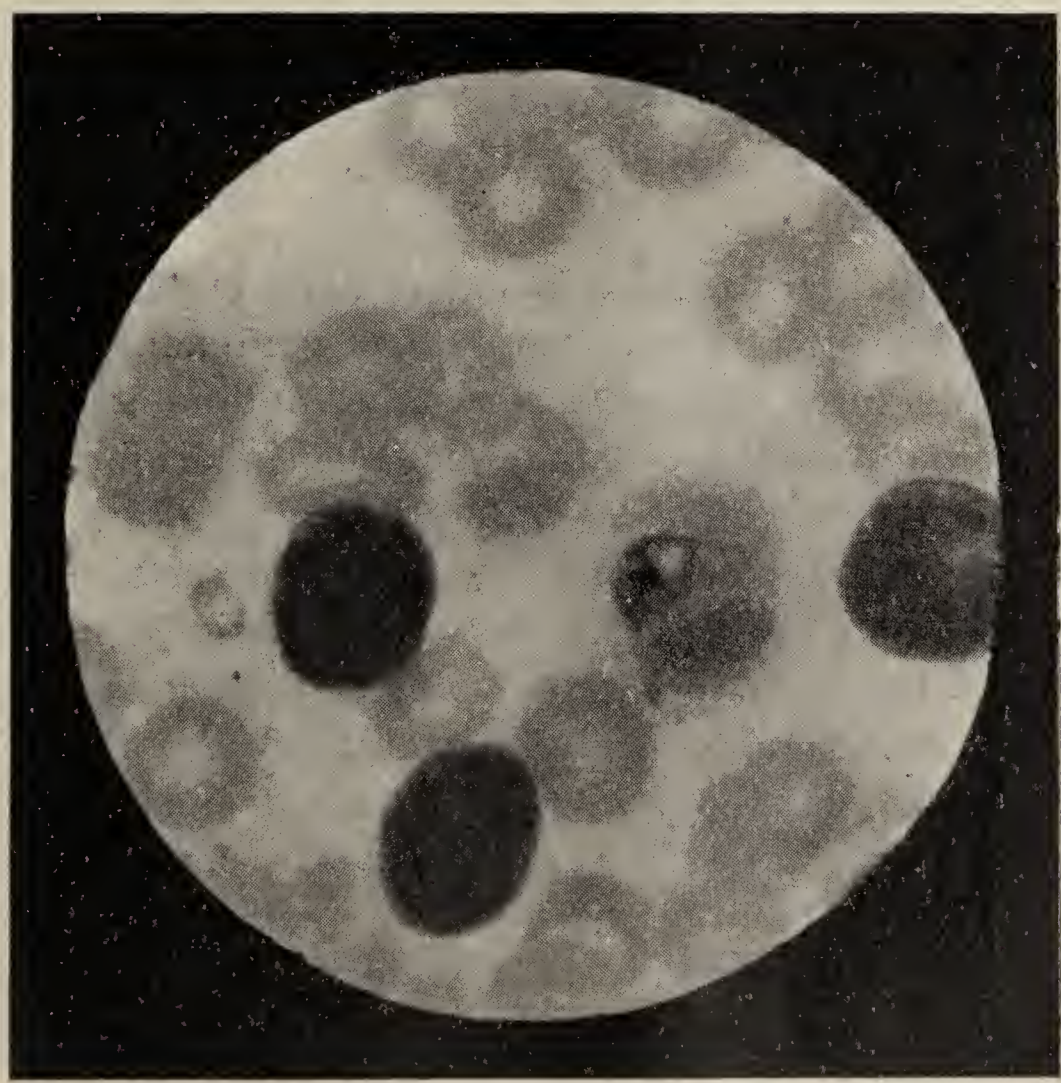


Fig. 5. — Souris inoculée avec le latex d'euphorbes. Parasite leishmaniforme. Foie. Microphotographie. Gross. 1.400 D. environ.

ments amiboïdes à l'état frais). Moelle osseuse : Vu deux parasites leishmaniformes. Examen des poumons négatifs.

Examen des cultures au bout d'une semaine. Culture du sang du cœur : parasites non rares de toutes dimensions; la phagocytose des globules rouges n'est pas rare. Culture du foie : grandes et petites formes nombreuses, parfois avec un flagelle bien net; petits trypanosomes à mouvements amiboïdes. Culture de la rate : parasites très nombreux, surtout de petites dimensions; petits trypanosomes et quelques-uns, gros, mais rares.

Les cultures sont pures.

Expérience VII. — **Souris** n° 8, poids 19 grammes, inoculée dans le péritoine le 11 avril 1922 avec du latex de *E. antiquorum* contenant des trypanosomes petits et plutôt rares. A l'examen du sang périphérique, fait à plusieurs reprises, la souris a montré deux fois seulement de très rares parasites libres, ronds ou ovalaires, avec noyau seulement, ou avec noyau et centrosome. Elle a été sacrifiée en bon état le 9 juin 1922. Poids : 23 grammes. La rate, augmentée de volume, pèse 19 centigrammes. Avec le sang du cœur, du foie et de la rate, on ensemence des plaques Nöller. *Frottis.* Sang du cœur : quelques rares formes endoglobulaires et un tout petit trypanosome libre. Foie, rate : très rares parasites assez gros, ronds ou ovalaires, avec plusieurs noyaux et centrosomes. Dimensions. Formes rondes de 4, 6 μ de diamètre; ovalaires de 6-9 μ de long sur 3, 4, 5 μ de large. Moelle osseuse : petits parasites très rares avec noyau ou avec noyau et centrosome; vu un petit trypanosome et une forme allongée avec un court flagelle. Frottis du poumon : négatifs. L'examen des cultures au bout de huit jours, à l'état frais et des frottis colorés, nous a montré des parasites assez nombreux et du même aspect que ceux décrits ci dessus.

CONCLUSIONS

Sur une trentaine de souris inoculées dans le péritoine avec le latex de différentes espèces d'euphorbes, contenant des trypanosomes et de rares amibes, 7 seulement ont montré jusqu'à présent quelques parasites dans le sang périphérique. A l'autopsie de ces 7 souris, dans les différents organes, il y avait de rares parasites leishmaniformes ou allongés, parfois avec un court flagelle, ou d'autres assez gros avec plusieurs noyaux et centrosomes. Les parasites étaient moins rares dans les frottis de la souris 3, inoculée avec du latex de *Exæcaria emarginata.* Les parasites étaient libres et plus rarement endoglobulaires. Les cultures sur plaque Nöller, faites avec le sang du cœur, du foie et de la rate des différentes souris, nous ont montré une grande quantité de parasites de toutes sortes : petits parasites ovalaires ou arrondis, petits ou gros trypanosomes; quelques

formes flagellées et surtout de nombreux protozoaires ayant l'aspect d'amibes, à mouvements amiboïdes très accentués. L'émission de pseudopodes n'était pas rare. Une partie des parasites phagocytait les globules rouges, et on pouvait voir de temps à autre dans le protoplasma des grains noirs.

Il résulte donc de nos expériences que des souris blanches, inoculées avec du latex d'euphorbes parasitées, se sont infectées d'une façon légère ; le sang et les organes, ensemencés dans le milieu de Nöller en plaque, ont donné lieu à de très belles cultures. L'infection de souris blanches peut se produire encore *à l'aide des parasites des cultures* (voir souris n° 6 et souris n° 7). Nous verrons plus tard si les autres souris qui ont été inoculées, et qui jusqu'à présent n'ont rien montré dans le sang périphérique, présenteront des parasites dans les organes et si les ensemencements dans les plaques Nöller donneront des cultures.

TABLE DES MATIÈRES

Etude de l'action thérapeutique du bismuth sur la syphilis, par R. Sazerac et C. Levaditi 1
Traitement de la syphilis par le bismuth, par L. Fournier et L. Guénot 14
Note concernant le traitement des syphilis nerveuses par le tartro-bismuthate de soude et de potasse, par A. Marie et M. Fourcade. 34
Sur l'emploi de l'aminophénolarsinate de soude dans le traitement des trypanosomiases, par Augusto Navarro Martin 38
Action thérapeutique de l'acide oxyaminophénylarsinique dans la spirillose des poules et la syphilis expérimentale du lapin, par C. Levaditi et A. Navarro Martin. 46
Premiers résultats du traitement de la syphilis par l'acide oxyaminophénylarsinique (sel de soude) ou « 189 », par L. Fournier, L. Guénot et A. Schwartz 53
Etude expérimentale de l'encéphalite dite « léthargique » (*deuxième mémoire*), par C. Levaditi, P. Harvier et S. Nicolau 63, 105
Note sur l'emploi du vaccin bilié de Besredka par la voie buccale dans quelques foyers épidémiques de fièvre typhoïde, par Louis Vaillant 149
Recherches sur la fièvre typhoïde, juillet 1915-janvier 1919 (Hôpital central de Bar-le-Duc), par Pierre Hébert et Marcel Bloch 157
Recherches sur les lésions du système nerveux central

dans le typhus exanthématique. Le rôle de la névrite ascendante dans le mécanisme de ces lésions, par G. Marinesco 209
Sur la répartition du manganèse dans l'organisme des plantes supérieures, par Gabriel Bertrand et Mme M. Rosenblatt. 230
Immunité cellulaire et humorale chez la chenille (*troisième mémoire*) par S. Metalnikow et H. Gaschen. . 233
Le dosage colorimétrique de la tyrosine et l'indice phénolique des protéiques, par Pierre Thomas 253
Du vaccin anticholérique sensibilisé vivant, par S. Masaki. 273
L'épidémie de choléra dans l'armée polonaise en 1920-1921, par S. Mutermilch. 287
Recherches expérimentales sur la fabrication des nitrates par l'oxydation biochimique de l'ammoniaque (*deuxième mémoire*), par E. Boullanger. 305
Etude sur la floculation des extraits alcooliques d'organes par les sérums normaux et les antisérums, par E. Césari 339
Les mycétomes à grains noirs du Sénégal, par les Drs F. Noc et Jouenne 365
De la pathogénie du choléra (*sixième mémoire*); le « choléra intestinal » des jeunes chiens, par G. Sanarelli. 386
Du mécanisme de l'infection cholérique et de la vaccination contre le choléra par la voie buccale, par S. Masaki 399
Sur la structure et le mode de développement du bacille tuberculeux, par Auguste Kirchenstein. 416
Sur quelques microbes thermophiles strictement anaérobies, par R. Veillon. 422
Le microbe de la gomme du sucre, par H. Violle 439
Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1921, par Jules Viala 455
Alphonse Laveran (1845-1922). 459
Colloïdes, catalyse, antigènes, anticorps, par M. Nicolle et E. Césari. 463
Recherches sur les variations de la teneur en manganèse des feuilles avec l'âge, par G. Bertrand et Mme M. Rosenblatt 494

Les Aertryckoses humaines, par A. Besson et V. de Lavergne 502
De la valeur antigène de bacilles tuberculeux et d'autres microbes cultivés dans le milieu à l'œuf, par A. Urbain 528
Réaction du milieu et production de la toxine diphtérique, par G. Abt et G. Loiseau 535
De la vaccination du cobaye contre le sang charbonneux, par A. Besredka et Y. de Trévise 562
Inoculation du charbon par la muqueuse conjonctivale, par Marguerite Aïtoff (Pétrograd). 567
Sur un nouveau genre de *Metchnikovellidæ*, par V.-A. Dogiel. 574
Vaccinations préventives par voie digestive chez l'homme dans la dysenterie bacillaire et la fièvre méditerranéenne, par Charles Nicolle et E. Conseil 579
Recherches expérimentales sur une maladie éruptive de la chèvre, observée en Grèce, par Georges Blanc, C. Mélanidi et J. Caminopetros 614
Action de l'aminophénolarsinate de soude (189) sur les trypanosomiases expérimentales du cobaye, par A. Navarro Martin et G. J. Stéfanopoulo. 619
Essais de vaccination du lapin et du cobaye contre l'infection tuberculeuse, par A. Calmette, L. Nègre et A. Boquet 625
L'anaphylaxie et l'immunité, par S. Metalnikov 632
Etudes sur le streptocoque gourmeux (premier mémoire), par MM. Brocq-Rousseu, Forgeot et A. Urbain. . . . 646
Les réactions d'immunité vis-à-vis d'une nouvelle race artificielle de *B. coli*, par Paul Fabry 654
Les effets du pneumothorax artificiel chez le lapin, par Jean S. Valtis. 664
La phagocytose, par M. Nicolle et E. Césari 669
La réaction de déviation du complément dans le diagnostic de la tuberculose des animaux domestiques, par L. Panisset et Jean Verge. 690
Les mouches tsétsés dans l'Ouest africain : Distribution géographique; Histoire; Rôle pathogène, par E. Roubaud 720

Recherches sur l'action curative et préventive de l'acide acétyloxyaminophénylarsinique (190 ou stovarsol) administré par voie digestive dans la syphilis, par C. Levaditi et L. Navarro Martin, *pour la partie expérimentale*, et L. Fournier, L. Guénot et A. Schwartz, *pour la partie clinique* 729
Remarques sur le titrage des sérums thérapeutiques, par M. Nicolle et E. Césari 747
Recherches sur l'attraction des mouches communes par les substances de fermentation et de putréfaction, par E. Roubaud et R. Veillon 752
Recherches sur la fécondité et la longévité de la mouche domestique, par E. Roubaud 765
Biologie de la mouche domestique et des larves de mouches à viande, en élevages aseptiques, par E. Wollman. 784
Observations sur une méthode mycologique pour la recherche et l'identification de certains sucres et autres hydrates de carbone, par Aldo Castellani et Frank E. Taylor . . . . . , ... 789
L'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse chez les lapins et les cobayes, par L. Balteano. . . . 806
Deux cas de rage canine observés à Brazzaville (A. E. F.), par M. Blanchard et G. Lefrou. 812
Centième anniversaire de la naissance de Pasteur. . . . 819
Recherches sur l'urée dans le sang des animaux, par A. Marie 820
Un cas de rage chez une lionne, par Y. Manouélian et J. Viala. 830
Etude du liquide céphalo-rachidien considéré dans ses rapports avec l'évolution et le traitement de la maladie du sommeil, par Lefrou et Ouzilleau. 834
Note sur deux épidémies de dengue à Beyrouth (1920-1921), par L. Couvy. 851
Les sels de bismuth dans le traitement de la syphilis, par Escher 859
Essais d'inoculation aux souris blanches du latex parasité de différentes espèces d'euphorbes, par G. Franchini. 873

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

	Alphonse Laveran (1845-1922).	459
Abt (G.) et Loiseau (G.) . .	Réaction du milieu et production de la toxine diphtérique.	535
Aïtoff (Marguerite). . . .	Inoculation du charbon par la muqueuse conjonctivale.	567
Balteano (L.).	L'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse chez les lapins et les cobayes.	806
Bertrand (Gabriel) et Mme Rosenblatt.	Sur la répartition du manganèse dans l'organisme des plantes supérieures..	230
—	Recherches sur les variations de la teneur en manganèse des feuilles avec l'âge	494
Besredka (A.) et Trévise (Y. de).	De la vaccination du cobaye contre le sang charbonneux.	562
Besson (A.) et Lavergne (V. de).	Les Aertryckoses humaines.	502
Blanc (Georges), Melanidi (C.) et Caminopetros (J.).	Recherches expérimentales sur une maladie de la chèvre, observée en Grèce.	614
Blanchard (M.) et Lefrou (G.)	Deux cas de rage canine observés à Brazzaville (A. E. F.)	812
Bloch (Marcel) et Hébert (Pierre)	Recherches sur la fièvre typhoïde, juillet-1915-janvier 1919 (Hôpital central de Bar-le-Duc).	157
Boquet (A.), Calmette (A.). et Nègre (L.)	Essais de vaccination du lapin et du cobaye contre l'infection tuberculeuse.	625

Boullanger (E.)	Recherches expérimentales sur la fabrication des nitrates par l'oxydation biochimique de l'ammoniaque (*deuxième mémoire*)	305
Brocq-Rousseu, Forgeot et Urbain (A.)	Etudes sur le streptocoque gourmeux (*premier mémoire*)	646
Calmette (A.), Nègre (L.) et Boquet (A.)	Essais de vaccination du lapin et du cobaye contre l'infection tuberculeuse	625
Caminopetros (J.), Blanc (G.) et Melanidi (C.)	Recherches expérimentales sur une maladie de la chèvre, observée en Grèce.	614
Castellani (Aldo) et Taylor (Frank E.)	Observations sur une méthode mycologique pour la recherche et l'identification de certains sucres et hydrates de carbone	789
Césari (E.)	Etude sur la floculation des extraits alcooliques d'organes par les sérums normaux et les antisérums	339
Césari (E.) et Nicolle (M.).	Colloïdes, catalyse, antigènes, anticorps	463
—	La phagocytose	669
—	Remarques sur le titrage des sérums thérapeutiques	747
Conseil (E.) et Nicolle (Charles)	Vaccinations préventives par voie digestive chez l'homme dans la dysenterie bacillaire et la fièvre méditerranéenne.	579
Couvy (L.)	Note sur deux épidémies de dengue à Beyrouth (1920-1921)	851
Dogiel (V. A.)	Sur un nouveau genre de *Metchnikovellidæ*	574
Escher	Les sels de bismuth dans le traitement de la syphilis	859
Fabry (Paul)	Les réactions d'immunité vis-à-vis d'une nouvelle race artificielle de *B. coli*	654
Forgeot, Urbain (A.) et Brocq-Rousseu	Etudes sur le streptocoque gourmeux (*premier mémoire*)	646
Fourcade (M.) et Marie (A.).	Note concernant le traitement des syphilis nerveuses par le tartro-bismuthate de soude et de potasse	34
Fournier (L.) et Guénot (L.).	Traitement de la syphilis par le bismuth.	14

FOURNIER (L.), GUÉNOT (L.) et SCHWARTZ (A.) . . . . Premiers résultats du traitement de la syphilis par l'acide oxyaminophénylarsinique (sel de soude) ou « 189 » . . 53

— Recherches sur l'action curative et préventive de l'acide acétyloxyaminophénylarsinique (190 ou stovarsol) administré par voie digestive dans la syphilis (*partie clinique*). 729

FRANCHINI (G.). . . . . Essais d'inoculation aux souris blanches du latex parasité de différentes espèces d'euphorbes 873

GUÉNOT (L.) et FOURNIER (L.). Traitement de la syphilis par le bismuth. 14

GASCHEN (H.) et METALNIKOW (S.). . . . . Immunité cellulaire et humorale chez la chenille (*troisième mémoire*). . . . 233

GUÉNOT (L.), FOURNIER (L.) et SCHWARTZ (A.) . . . . Premiers résultats du traitement de la syphilis par l'acide oxyaminophénylarsinique (sel de soude) ou « 189 ». . 53

— Recherches sur l'action curative et préventive de l'acide acétyloxyaminophénylarsinique (190 ou stovarsol) administré par voie digestive dans la syphilis (*partie clinique*). 729

HARVIER (P.), NICOLAU (S.) et LEVADITI (C.) . . . . . Etude expérimentale de l'encéphalite dite « épidémique » (*deuxième mémoire*). 63, 105

HÉBERT (Pierre) et BLOCH (Marcel) . . . . . Recherches sur la fièvre typhoïde, juillet 1915-janvier 1919 (Hôpital central de Bar-le-Duc). 157

JOUENNE et NOC (F.) . . . . Les mycétomes à grains noirs du Sénégal 366

KIRCHENSTEINS (Auguste). . Sur la structure et le mode de développement du bacille tuberculeux . . . 417

LAVERGNE (V. de) et BESSON (A.) . . . . . Les Aertryckoses humaines. 502

LEFROU (G.) et BLANCHARD (M.) . . . . . Deux cas de rage canine observés à Brazzaville (A. E. F.) 812

LEFROU et OUZILLEAU. . . . Etude du liquide céphalo-rachidien considéré dans ses rapports avec l'évolution et le traitement de la maladie du sommeil 834

LEVADITI (C.), HARVIER (P.) et NICOLAU (S.) . . . . . Etude expérimentale de l'encéphalite dite « léthargique » (*deuxième mémoire*). 63, 105

LEVADITI (C.) et NAVARRO-MARTIN (A.). . . . . Action thérapeutique de l'acide oxyaminophénylarsinique dans la spirillose des poules et la syphilis expérimentale du lapin 46

— Recherches sur l'action curative et préventive de l'acide acétyloxyaminophénylarsinique (190 ou stovarsol) administré par voie digestive dans la syphilis (*partie expérimentale*) 729

LEVADITI (C.) et SAZERAC (R.). Etude de l'action thérapeutique du bismuth sur la syphilis 1

LOISEAU (G.) et ABT (G.) . . Réaction du milieu et production de la toxine diphtérique 535

MANOUÉLIAN (Y.) et VIALA (J.) . . . . . Un cas de rage chez une lionne 830

MARIE (A.) et FOURCADE (M.). Note concernant le traitement des syphilis nerveuses par le tartro-bismuthate de soude et de potasse. 34

MARIE (A.) . . . . . Recherches sur l'urée dans le sang des animaux. 820

MARINESCO (G.) . . . . . Recherches sur les lésions du système nerveux central dans le typhus exanthématique. Le rôle de la névrite ascendante dans le mécanisme de ces lésions. 209

MASAKI (S.). . . . . Du vaccin anticholérique vivant 273

— Du mécanisme de l'infection cholérique et de la vaccination contre le choléra par la voie buccale 399

MELANIDI (C.), CAMINOPETROS (J.) et BLANC (Georges). . Recherches expérimentales sur une maladie de la chèvre observée en Grèce. 614

METALNIKOV (S.). . . . . L'anaphylaxie et l'immunité. 632

METALNIKOW (S.) et GASCHEN (H.) . . . . . Immunité cellulaire et humorale chez la chenille (*troisième mémoire*) 233

MUTERMILCH (S.). . . . . L'épidémie de choléra dans l'armée polonaise en 1920-1921 287

NAVARRO-MARTIN (Auguste). Sur l'emploi de l'aminophénolarsinate de soude dans le traitement des trypanosomiases 38

NAVARRO MARTIN (A.) et LEVADITI (C.) . . . . . Action thérapeutique de l'acide oxyaminophénylarsinique dans la spirillose des poules et la syphilis expérimentale du lapin 46

— Recherches sur l'action curative et préventive de l'acide acétyloxyaminophénylarsinique (190 ou stovarsol) administré par voie digestive dans la syphilis (*partie expérimentale*) 729

NAVARRO MARTIN (A.) et STÉFANOPOULO (G.-J.) . . . . Action de l'aminophénolarsinate de soude (189) sur les trypanosomiases expérimentales du cobaye. 619

NÈGRE (L.), BOQUET (A.) et CALMETTE (A.). . . . . Essais de vaccination du lapin et du cobaye contre l'infection tuberculeuse. 625

NICOLAU (S.), LEVADITI (C.) et HARVIER (P.). . . . . Etude expérimentale de l'encéphalite dite « léthargique » (*deuxième mémoire*). 63, 105

NICOLLE (Charles) et CONSEIL (E.) . . . . . Vaccinations préventives par voie digestive chez l'homme dans la dysenterie bacillaire et la fièvre méditerranéenne. 579

NICOLLE (Maurice) et CÉSARI (E.) . . . . . Colloïdes, catalyse, antigènes, anticorps. 463

— La phagocytose. 669

— Remarques sur le titrage des sérums thérapeutiques 747

NOC (F.) et JOUENNE . . . . Les mycétomes à grains noirs du Sénégal. 366

OUZILLEAU et LEFROU. . . . Etude du liquide céphalo-rachidien considéré dans ses rapports avec l'évolution et le traitement de la maladie du sommeil. 834

PANISSET (L.) et VERGE (Jean) . . . . . La réaction de déviation du complément dans le diagnostic de la tuberculose des animaux domestiques. 690

ROSENBLATT (Mme) et BERTRAND (Gabriel). . . . . Sur la répartition du manganèse dans l'organisme des plantes supérieures.. 230

— Recherches sur les variations de la teneur en manganèse des feuilles avec l'âge. 494

ROUBAUD (E.) . . . . . Les mouches tsétsés dans l'Ouest africain : Distribution géographique ; Histoire ; Rôle pathogène. 720

— Recherches sur la fécondité et la longévité de la mouche domestique 765

ROUBAUD (E.) et VEILLON (R.). Recherches sur l'attraction des mouches communes par les substances de fermentation et de putréfaction 752

SANARELLI (G.) . . . . . De la pathogénie du choléra (*sixième mémoire*) ; le « choléra intestinal » des jeunes chiens. 386

SAZERAC (R.) et LEVADITI (C.). Etude de l'action thérapeutique du bismuth sur la syphilis. 1

SCHWARTZ (A.), FOURNIER (L.) et GUÉNOT (L.) . . . . . Premiers résultats du traitement de la syphilis par l'acide oxyaminophénylarsinique (sel de soude) ou « 189 ». . 53

— Recherches sur l'action curative et préventive de l'acide acétyloxyaminophénylarsinique (190 ou stovarsol) administré par voie digestive dans la syphilis (*partie clinique*). 729

STÉFANOPOULO (G.-J.) et NAVARRO MARTIN (A.). . . . Action de l'aminophénolarsinate de soude (189) sur les trypanosomiases expérimentales du cobaye. 619

TAYLOR (Frank E.) et CASTELLANI (Aldo) . . . . . Observations sur une méthode mycologique pour la recherche et l'identification de certains sucres et autres hydrates de carbone. 789

THOMAS (Pierre). . . . . Le dosage colorimétrique de la tyrosine et l'indice phénolique des protéiques. 253

TRÉVISE (Y. de) et BESREDKA (A.) . . . . . De la vaccination du cobaye contre le sang charbonneux 562

URBAIN (A.). . . . . De la valeur antigène de bacilles tuberculeux et d'autres microbes cultivés dans le milieu à l'œuf. 528

UBBAIN (A.), BROCQ-ROUSSEU et FORGEOT . . . . . Études sur le streptocoque gourmeux (*premier mémoire*). 646

VAILLANT (Louis) . . . . . Note sur l'emploi du vaccin bilié de Besredka par la voie buccale dans quelques foyers épidémiques de fièvre typhoïde. 149

VALTIS (Jean S.). . . . . Les effets du pneumothorax artificiel chez le lapin 664
VEILLON (R.) . . . . . Sur quelques microbes thermophiles strictement anaérobies 422
VEILLON (R.) et ROUBAUD (E.). Recherches sur l'attraction des mouches communes par les substances de fermentation et de putréfaction 752
VERGE (Jean) et PANISSET (L.).. . . . . La réaction de déviation du complément dans le diagnostic de la tuberculose des animaux domestiques. 690
VIALA (Jules) . . . . . Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1921. 455
VIALA (J.) et MANOUÉLIAN (Y.).. . . . . Rage spontanée chez la lionne 830
VIOLLE (H.) . . . . . Le microbe de la gomme et du sucre. . 439
WOLLMAN (E.). . . . . Biologie de la mouche domestique et des larves de mouches à viande en élevages aseptiques. 784

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.